

**ÜBER DEN „WAHREN GLUKOSE“-GEHALT
UND DAS VERHALTEN DER RESTREDUKTION
IM THERAPEUTISCHEN INSULINKOMA**

Inaugural-Dissertation

Zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

verfaßt und

einer Hohen Medizinischen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

RENATE KRÜGER-KIEHLMANN

aus Köln

München 1965



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der II. Medizinischen Klinik der Universität München

Direktor: Prof. Dr. Dr. G. Bodechtel

ÜBER DEN "WAHREN GLUKOSE"-GEHALT UND
DAS VERHALTEN DER RESTREDUKTION
IM THERAPEUTISCHEN INSULINKOMA

INAUGURAL-DISSERTATION

Zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und

einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Renate Krüger-Kiehlmann
aus K ö l n

M ü n c h e n 1965

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. A. Schrader
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. Dr. G. Bodechtel
Dekan: .	Prof. Dr. O. Hug

Tag der mündlichen Prüfung: 1. Juni 1965

Druck: Photostelle der Universität zu Köln

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet.

INHALTSÜBERSICHT

	Seite
I <u>Einleitung</u>	1
II <u>Wahl der Methodik</u>	5
III <u>Methodik</u>	
1. Bestimmung des Blutzuckers nach HAGEDORN-JENSEN	8
2. Enzymatische Bestimmung der Glukose mit Glukoseoxydase	10
3. Enzymatische Bestimmung des Glutathions mit Glyoxalase I	12
4. Enzymatische Bestimmung von AMP und ADP	17
5. Enzymatische Bestimmung von ATP	19
6. Bestimmung der Ascorbinsäure nach VAN EEKELEN, EMMERIE und WOLFF	20
IV <u>Ergebnisse</u>	
1. Glukose und Restreduktion des Blutes unter dem Einfluss von Insulin	23
2. Glutathion, Ascorbinsäure, ATP, ADP und AMP unter dem Einfluss von Insulin	27
3. Tabellen und Kurven	30
V <u>Statistischer Test</u>	38
VI <u>Diskussion</u>	
1. Methodik	44
2. Restreduktion	47
3. Glukose	48
4. Glutathion	52
5. Ascorbinsäure	56
6. Adenosinphosphorsäuren	61
7. Bemerkungen zur Dosierung des Insulins	63
VII <u>Zusammenfassung</u>	64

EINLEITUNG.

Im Jahre 1909 lösten ZÜLZER und FORSCHBACH zum ersten Male ein hypoglykämisches Koma durch Verabreichung von Pankreasextrakt künstlich aus. Sie führten die schweren Bewußtseinsstörungen und Krämpfe auf eine toxische Substanz im Pankreas zurück. Daß es sich dabei jedoch um eine Überdosierung gehandelt hatte, wurde erst 1 1/2 Jahrzehnte später von COLLIP erkannt, als es durch die Ausarbeitung einer Blutzuckerbestimmungsmethode von BANTING, HAGEDORN und JENSEN möglich geworden war, das Insulin quantitativ zu bestimmen.

Während ZÜLZER und FORSCHBACH die schweren hypoglykämischen Symptome ungewollt auslösten und daraufhin ihre Versuche abbrachen, führte der Österreicher Manfred SAKEL im Jahre 1935 als erster ein hypoglykämisches Koma absichtlich herbei. SAKEL hatte in Berlin bei der Insulingrenzdosenbehandlung Morphiumsüchtiger beobachtet, daß hypoglykämische "Schocks" ⁺⁾ verblüffende psychische und charakterologische Veränderungen bewirken und daraufhin in Wien seine Insulin-Koma-Therapie der Psychosen entwickelt. Vor ihm hatten bereits BECKER, HAACK, JASCHKE, MISKOLCZY, SCHMIDT, SLOTOPOLSKY und besonders STECK und KLEMPERER größere Insulindosen zur Bekämpfung von Erregungszuständen und zur

⁺⁾ Den Begriff Insulin-"Schock" prägte SAKEL. Da jedoch die Bezeichnung "Schock" in der Medizin seit langem vergeben ist, sprechen wir vom Insulin-Koma. ZIMMERMANN schuf dafür die Bezeichnung "Insulinierungssymptom", die sich jedoch nicht durchsetzte.

Behebung der Nahrungsverweigerung verabreicht. Während sie jedoch nur leichtere Hypoglykämien herbeiführten, steigerte SAKEL die Insulindosen solange, bis, wie er sagt, "ein somatisch deutlich sichtbarer Zustand mit Koma erreicht ist". Die Symptome also, die seine Vorgänger gemieden wissen wollten, ja fürchteten, führte er als "wirksame Kardinalpunkte" seiner Therapie ein, indem er das Koma tagtäglich, wochen- und monatelang wiederholte.

Mit der Einführung dieser Insulinkur zur Therapie der Psychosen wurde das Problem der Komaentstehung von neuem aktuell, besonders als man beobachtete, daß es in einigen Fällen trotz genügender Kohlenhydratzufuhr nicht möglich war, die Patienten aus dem Koma zu "wecken". Sie starben nach wenigen Tagen, in denen sie das Bewußtsein nicht wiedererlangten. Es ist uns nicht möglich, dieses prolongierte Koma mit seinen Folgen zu verhüten, solange das Wissen um die Ursache der Komaentstehung noch lückenhaft ist.

In den letzten drei Jahrzehnten wurden über 600 Arbeiten veröffentlicht, die sich mit dem Problem des hypoglykämischen Komats und des prolongierten hypoglykämischen Komats befaßten. Man hat die verschiedensten Faktoren für die Komaauslösung verantwortlich gemacht, so z. B. osmotische und vasomotorische Vorgänge, Bildung von Reizstoffen, besonders von Krampfgiften für das ZNS (Methylglyoxal, FISCHLER), Veränderungen der Gesamtstoffwechsellage, Unfähigkeit der Zellen, den Zucker zu verbrennen, Translokationsstörung der Zellgrenzflächen, hier besonders für Glukosemoleküle, Steigerung des Liquordruckes, Senkung des Liquorzuckers ("Hypoglykosacchidie", ZENKHAUSER, ERB), universelle Adynamie durch Blutzucker-mangel (KÜPPERS) u. a. m. .

Nach der sehr verbreiteten Theorie von MACLEOD werden die cerebralen Symptome durch eine Nährstoffmangelhypoxydose ausgelöst: Infolge der starken Insulinwirkung kommt es zu einer

Senkung des Glukosespiegels, mit einer gewissen Latenz schließlich zum Glukosemangel im Gehirn und hier infolge des fehlenden Brennmaterials Zucker zu einer Einschränkung der Oxydation.

Der Theorie von MACLEOD steht die Theorie von DIENST gegenüber. DIENST sieht die Ursache des hypoglykämischen Komas in einer "dyskrasischen Fehlsteuerung", die Ausdruck einer Störung der inneren Balance und zwar einer Störung der Säure-Basen-Regulation ist. Im einzelnen erklärt er die Vorgänge folgendermaßen: Der als Folge der Insulinwirkung auftretende Kohlenhydratmangel führt zur Retention von sauren Stoffwechselschlacken. Solange die Basenreserven der Zellen noch ausreichen, wie das bei der "einfachen Hypoglykämie" der Fall ist, können diese intermediären Restprodukte gebunden und damit unschädlich gemacht werden. Im hypoglykämischen Koma aber sind die Alkalivorräte erschöpft, und die Stoffwechselprodukte können nicht mehr gebunden werden. Sie wirken als Gifte und üben als solche auf die Ganglienzellen einen krankhaften Reiz aus. Nach DIENST ist somit nicht der Kohlenhydratmangel, sondern die durch den Kohlenhydratmangel bedingte Entstehung von sauren intermediären Restprodukten für die Komaentstehung ausschlaggebend.

Zur endgültigen Klärung des Problems der Pathogenese des hypoglykämischen Komats müßten wir die sich während des Insulinkomas abspielenden Prozesse in den Ganglienzellen objektiv beobachten. Da das nicht möglich ist, sind wir darauf angewiesen, Blutuntersuchungen durchzuführen und vom Blut aus Analogieschlüsse auf die Stoffwechselvorgänge im Gehirn zu ziehen. Eine besondere Bedeutung kommt dabei der Bestimmung des Blutzuckergehaltes zu, da das Gehirn fast ausschließlich vom Glukoseangebot des Blutes lebt und bei Glukosemangel der Ablauf

der normalen Funktion gestört ist. Die kliniküblichen Blutzuckerbestimmungsmethoden erfassen jedoch nicht nur die Glukose, sondern auch andere reduzierende Substanzen, die sogenannte Restreduktion, so daß die nach diesen Verfahren ermittelten Werte keinen Aufschluß darüber geben, wieviel Glukose dem Gehirn zur Verfügung steht. Diese Frage nach der Größe des "wahren Glukosegehaltes" bei normaler Stoffwechsellage und im Verlauf der therapeutischen Insulinhypoglykämie, besonders im Koma, sowie die Frage nach dem Verhalten der Restreduktion während der Insulinhypoglykämie habe ich im Rahmen der Arbeiten von Herrn Dr. F. BAUMGARTEN zu klären. Darüber hinaus habe ich mir zur Aufgabe gestellt, die Konzentration der wichtigsten an der Restreduktion beteiligten Substanzen bei normaler Stoffwechsellage und im Verlauf des therapeutischen Insulinkomas zu bestimmen, um evtl. Änderungen in der prozentualen Zusammensetzung der Restreduktion zu erfassen.

WAHL DER METHODIK.

Bei der Auswahl geeigneter Untersuchungsmethoden waren folgende Bedingungen zu berücksichtigen:

Die Bestimmungen mußten mit geringen Blutmengen durchführbar sein, da im Verlaufe einer Insulinkomabehandlung, d.h. in der Zeit von vier Stunden, Blut für etwa 70 Einzelbestimmungen entnommen werden mußte,

die Methoden mußten rasch durchführbar sein, um das Auftreten von Fehlerquellen durch zu langes Stehenlassen der Substrate zu vermeiden,

die Methoden mußten spezifisch für die jeweils zu bestimmende Substanz sein.

Ich habe zunächst versucht, die Glukose, das Glutathion, die Ascorbinsäure und die Adenosinphosphate mittels Papierchromatographie zu bestimmen, da dabei mehrere Substanzen gleichzeitig und unter annähernd gleichen Bedingungen in verhältnismässig kurzer Zeit nachgewiesen werden können. Dieses Verfahren lieferte jedoch nur brauchbare Glukose- und Adenosinphosphat-Werte. Die Glukose wurde mit einem Fehler von 6%, die Adenosintriphosphorsäure mit einem Fehler von 8% und die Adenosinmonophosphorsäure und die Adenosindiphosphorsäure mit einem Fehler von 11% wiedergefunden. Die papierchromatographische Glutathion-SH-Bestimmung war nur bei sehr hohen Glutathion-SH-Konzentrationen möglich. Ausserdem konnte das Glutathion nicht ausreichend von einigen anderen Aminosäuren getrennt werden. Der Ascorbinsäure-Nachweis war ebenfalls unzulänglich.

Nachdem sich die quantitativen Bestimmungen des Glutathions und der Ascorbinsäure mittels Papierchromatographie als nicht durchführbar erwiesen hatten, wurden hierfür neue, z. T. enzymatische Methoden gewählt. Auch die Glukose und die Adenosinphosphate wurden nur im ersten Teil der Arbeit papierchromatographisch, nach der dritten Versuchsreihe jedoch mit einer einfacheren und zeitsparenderen enzymatischen Methode bestimmt. Die Enzyme hierfür wurden von der Firma BOEHRINGER, Mannheim, bezogen.

Zur quantitativen Bestimmung des Glutathions wurden folgende Methoden in Betracht gezogen:

Der Glutathion-Nachweis mit Alloxan nach LAZAROW, wobei eine bisher noch unbekannte Verbindung entsteht, deren Extinktion bei 305 m μ spektrophotometrisch gemessen wird. Diese Methode ist zwar spezifisch, aber wegen der Instabilität des Alloxans bei pH 7.5 nicht durchführbar.

Die Verfahren, die auf einer quantitativen Erfassung der SH-Gruppen durch Oxydation, polarographische Titration oder colorimetrische Sichtbarmachung beruhen, erwiesen sich als nicht spezifisch.

Die Methode nach SULLIVAN, wobei das zu Cysteinylglycin hydrolysierte Glutathion bestimmt wird, erforderte, ebenso wie die Papierchromatographie, zu hohe Glutathion-SH-Konzentrationen, so daß sie nicht angewendet werden konnte.

Den Forderungen nach einer Methode, die sowohl spezifisch für Glutathion ist, als auch geringe Glutathion-SH-Konzentrationen zu messen erlaubt, wird der enzymatische Glutathion-Nachweis gerecht, der auf der Funktion des Glutathion-SH als Coenzym der Glyoxalase I und II beruht.

Nach WIELAND und KÖPPE wird hier spektrophotometrisch die Konzentration von S-Lactoyl-Glutathion-SH bestimmt, das bei Gegenwart von Glyoxalase I quantitativ aus Glutathion-SH und Methylglyoxal entsteht. Dieses Verfahren wurde zur Ermittlung der Glutathion-Konzentration des Blutes angewandt. Die Durchführung bereitete insofern Schwierigkeiten, als das Enzym Glyoxalase I von keinem pharmazeutischen Werk bezogen werden konnte, sondern aus Hefe hergestellt und gereinigt werden mußte, was mit einem erheblichen Arbeits- und Zeitaufwand verbunden war.

Zur Ascorbinsäurebestimmung standen die Methoden nach FUJITA-EBIHARA und nach VAN EEKELEN zur Wahl. FUJITA-EBIHARA ermittelten die Ascorbinsäure colorimetrisch mittels Phospho-18-Wolframsäure. Das Verfahren beruht darauf, daß man FOLIN-Reagenz in genügend gepufferter Lösung durch Ascorbinsäure reduziert, nachdem die anderen, das Reagenz ebenfalls reduzierende Substanzen durch Monojodessigsäure reaktionsunfähig gemacht worden sind. In dieser Arbeit wurde die einfachere und weniger Zeit in Anspruch nehmende Methode nach VAN EEKELEN und EMMERIE angewandt, die auf der Titration des Vitamin C gegen 2.6 Dichlorphenolindophenol beruht. Die anderen reduzierenden Substanzen werden durch Hg-Acetat beseitigt. Mit dieser Methode wird der Gesamt-Ascorbinsäure-Gehalt des Blutes erfaßt.

METHODIK.

Die Untersuchungen wurden an insgesamt 43 schizophrenen Patientinnen im Alter von 13 bis 33 Jahren durchgeführt. Bestimmt wurde der Gehalt des Blutes an Glukose, Glutathion, Ascorbinsäure, Adenosinmonophosphorsäure, Adenosindiphosphorsäure und Adenosin-triphosphorsäure vor, während und nach der therapeutischen Insulinhypoglykämie.

Den ersten 21 Patientinnen wurde das Blut aus der Fingerbeere entnommen und auf seine Glukose-Konzentration und die Größe der Restreduktion untersucht. Die Blutentnahme zur Ermittlung der Normalwerte erfolgte morgens 4³⁰ Uhr. Sofort danach wurde Insulin injiziert. An der Universitätsnervenklinik München verwendete man BRUNNEN-GRÄBER-Insulin und dosierte es so, daß das Koma in die vierte Insulinstunde fiel. Nach der Insulin-Injektion wurde bis zum Komabeginn alle 10-15 Minuten, im Koma alle 7 Minuten und nach dem "Wecken" alle 20 Minuten Blut entnommen. Das Blut wurde in allen Fällen sofort enteiweißt. Die weitere Aufarbeitung erfolgte im Laufe des Nachmittags.

1) Bestimmung des Blutzuckers nach HAGEDORN-JENSEN.

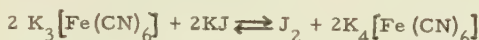
Die Blutzuckerbestimmung nach H. -J. beruht auf der reduzierenden Eigenschaft der Glukose. Als Oxydationsmittel wird Kaliumferricyanid verwendet, das ^{durch} Glukose in Kaliumferrocyanid überführt wird:



Das 3-wertige Fe geht dabei in 2-wertiges Fe über.

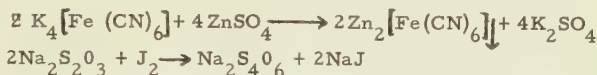
Der nicht reduzierte Kaliumferricyanidüberschuß

wird jodometrisch nach folgendem Prinzip bestimmt:

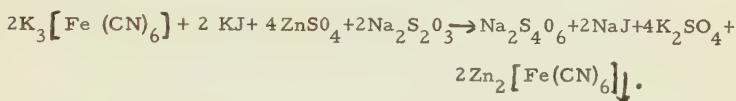


Das Kaliumferrocyanid wird durch $ZnSO_4$ abgefangen,

und das Jod wird mit Natriumthiosulfat ausitiert:



Die Endgleichung lautet:



Die Methode wird folgendermaßen durchgeführt:

Man pipettiert zur Enteiweißung 0,1 ml Blut in ein Reagenzglas mit 1 ml n/10 NaOH und 5 ml 0.45 %ige $ZnSO_4$ -Lösung.

Nachdem die Pipette mehrmals mit der kolloidalen Zinkhydroxydlösung ausgespült wurde, schüttelt man zur Vermeidung der Glykolyse den Inhalt des Reagenzglases kräftig durch, stellt das Glas 3 Minuten in ein siedendes Wasserbad, filtriert die Lösung anschließend und wäscht das Filter zweimal mit je 3 ml destilliertem Wasser nach. Zu dem Filtrat pipettiert man genau 2 ml Ferricyanidlösung, stellt das Glas für 15 Minuten in ein siedendes Wasserbad, gibt nach dem Abkühlen 2 ml Kalium-Jodid-Zinksulfat-Kochsalz-Gebrauchslösung, 2 ml Essigsäure und 2 Tropfen Stärke hinzu und titriert anschließend mit n/200 Natriumthiosulfat bis zum Verschwinden der blauen Farbe.

Die zur Titration verbrauchte Natriumthiosulfatmenge wird durch Multiplikation mit dem für die Natriumthiosulfatlösung ermittelten Faktor korrigiert. Aus dem korrigierten Natrium-

thiosulfatverbrauch liest man aus der Tabelle den zugehörigen Zuckergehalt in mg% ab und subtrahiert davon den Leerwert.

Der Leerwert stellt das Mittel aus drei Bestimmungen dar, die in der gleichen Weise wie oben beschrieben, nur ohne Versuchsmaterial, vorgenommen wurden.

Während der Untersuchungen habe ich festgestellt, daß Sonnenlicht die Blutzuckerwerte meßbar verändert, besonders dann, wenn es nach dem Kaliumferricyanidzusatz auf die Substrate einwirkt. Die Substrate wurden deshalb dem Einfluß des Sonnenlichtes entzogen.

Ferner veränderte sich die Konzentration der Natriumthiosulfatlösung ständig. Durch Zusatz von Amylalkohol konnte ich jedoch die Lösung weitgehend stabil halten. Zur Kontrolle habe ich wöchentlich einmal den Natriumthiosulfat-Faktor bestimmt. Durch Ausschalten dieser Fehlerquellen konnte ich den Blutzucker mit einem Fehler von ± 1 mg% bestimmen.

2) Die enzymatische Bestimmung der Glukose.

Die nachstehende Methode lehnt sich an Angaben von HUGGET und NIXON an. Das Enzym Glukoseoxydase (GOD) katalysiert die Oxydation von β -D(+)-Glukose zum Glukonolacton, das weiter zu Glukonsäure reagiert:

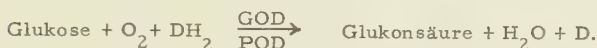


Das dabei entstehende Wasserstoffsuperoxyd oxydiert unter enzymatischer Katalyse durch Peroxydase (POD) den Wasserstoffdonator "DH₂" (o-Dianisidin), der dabei in den rotbraunen

Farbstoff "D" übergeht:



Die Gesamtgleichung heißt also:



Die Menge des braunen Farbstoffes ist ein Maß für die umgesetzte Glukosemenge.

Die Durchführung der Methode erfolgte nach der Vorschrift der Firma BOEHRINGER, Mannheim:

In ein Zentrifugenglas werden nacheinander 1.0 ml 6%ige Perchlorsäure und 0.1 ml Blut pipettiert. Anschließend wird 10 Minuten bei 3000 Umdrehungen in der Minute zentrifugiert, und vom Überstand werden 0.2 ml in ein Reagenzglas mit 5.0 ml Glukose-Reagenz (zusammengesetzt aus Phosphatpuffer, POD, GOD und o-Dianisidin) pipettiert. Zur Blindwert- und Glukosestandardwert-Bestimmung setzt man anstelle der enteiweißten Blutprobe 0.2 ml destilliertes Wasser bzw. 0.2 ml Glukosestandardlösung von BOEHRINGER ein.

Man läßt die Gläser genau 35 Minuten bei Raumtemperatur stehen und mißt dann in 10 mm Küvetten bei 436 m μ die Farbdifferenz (Extinktionsdifferenz, ΔE) zwischen Probe- bzw. Glukose-Standardlösung und Reagenzienblindwert. Um den Glukosegehalt im ml Blut zu erhalten, bezieht man die Messung auf die Extinktion der Glukose-Standard-Lösung:

$$\frac{\Delta E_{\text{Probe}}}{\Delta E_{\text{Standard}}} \cdot 100 = \text{mg\% Glukose.}$$

Bei der Durchführung der Untersuchungen habe ich festgestellt, daß die Fehlerbreite der Methode um so größer wird, je mehr der Glukosegehalt des Blutes im Koma absinkt. Ich habe deshalb die Konzentration der Glukose-Standard-Lösung der Konzentration der enteiweißten Testlösung durch entsprechende Verdünnung der Glukosevergleichslösung weitgehend angeglichen. Zur Bestimmung der Normalwerte habe ich die Glukose-Standardlösung von BOEHRINGER, die 91% Glukose/ml enthält, verwendet. Zur Bestimmung der Glukosewerte in den ersten 45 Minuten nach der Insulininjektion habe ich diese Lösung auf die Hälfte und zur Bestimmung der Koma-Werte auf 1/5 verdünnt. Dadurch konnte die Glukose auch im Koma mit einer Fehlerbreite von $\pm 0,5 \text{ mg\%}$ bestimmt werden.

3) Enzymatische Bestimmung des Glutathions nach
WIELAND und KÖPPE.

Die Methode beruht darauf, daß in Gegenwart des Fermentes Glyoxalase I aus GSH und Methylglyoxal quantitativ S-Lactoyl-GSH entsteht.

Durchgeführt wird die Glutathion-Bestimmung folgendermaßen: 5 ml Venenblut werden mit 5 ml 6%iger Perchlorsäure enteiweißt. Durch die Perchlorsäure werden die Erythrocyten zerstört, so daß das in ihnen befindliche GSH frei wird. Der Niederschlag wird bei 3000 U/Minute abzentrifugiert. Von der überstehenden Lösung werden 5 ml abpipettiert, mit 2n KOH neutralisiert und mit Aqua dest. auf 10 ml aufgefüllt. Der KClO_4 -Niederschlag wird abzentrifugiert. Zum Rest pipettiert man nacheinander in eine Quarzküvette 3.24 ml eines 0.067 m Kaliumphosphatpuffers vom pH 6.3, 0.05 ml einer 2.5%igen Methylglyoxallösung, 0.2 ml nach der oben beschriebenen Vorschrift

enteiweißtes Blut und zum Schluß 0.01 ml Glyoxalase I. Ausserdem setzt man Spuren von NaBH_4 zu, um vorhandenes Disulfid (Glutathin-S-S-Glutathion) zu reduzieren.

Sofort nach dem Zusatz des Fermentes wird die Extinktion bei 240 m μ im ZEISS-Spektrophotometer gemessen (die Nullwerte werden gegen Luft eingestellt). Nach 10-20 Minuten, wenn quantitativ S-Lactoyl-GSH entstanden ist, kommt die Reaktion zum Stillstand. Man mißt wieder die Extinktion und setzt dann noch einmal 0.01 ml Glyoxalase I hinzu, um die Eigenextinktion des Fermentes zu bestimmen.

Die Differenz ΔE zwischen der Extinktion zu Beginn und der Extinktion nach dem Stillstand der Reaktion ist ein Maß für den S-Lactoyl-GSH- bzw. den Glutathion-Gehalt der Küvettenlösung. Jedem ΔE entspricht eine bestimmte Glutathion-Konzentration, die aus der in Abb. 1 dargestellten Kurve in $\mu\text{g/ml}$ Küvettenlösung abgelesen werden kann. Daraus errechnet sich bei 3.5 ml Küvettenlösung, die 0.2 ml 1:4 verdünntes, enteiweißtes Blut enthält, der Glutathiongehalt in mg% folgendermaßen:

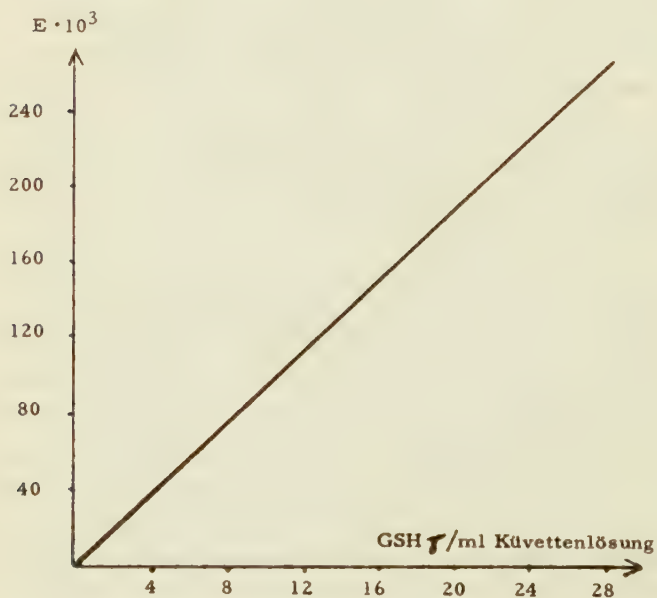
$$\frac{\text{Glutathiongehalt/ml Küvettenlösung} \times 3,5 \times \text{Verdünnung} \times 500}{1000} \\ = \text{mg\% Glutathion im Blut.}$$

Zur Ermittlung der Eichkurve pipettiert man nacheinander in eine Küvette 3.42 ml Phosphatpuffer (0,067 m, pH 6,3), 0,05 ml 2,5%ige Methylglyoxallösung, 0,02 ml 82%ige Glutathionlösung und 0,01 ml Ferment, das sind insgesamt 3,5 ml Lösung. Diese 3,5 ml enthalten 16.52 μg Glutathion. In 1 ml der Testlösung sind dann 4,72 μg Glutathion enthalten. Die diesem Glutathion-Gehalt entsprechende Extinktionsdifferenz ΔE ermittelt man in der gleichen Weise wie oben beschrieben und trägt den Wert mit der dazugehörigen Glutathion-Konzentration in ein Koordinaten-

system ein. Weitere Kurvenpunkte werden ermittelt, indem man 0,05, 0,08, 0,10 und 0,12 ml der 82 %igen Glutathionlösung zum Test einsetzt. Die Quantität des Phosphatpuffers wird entsprechend verringert, so dass das Endvolumen immer 3,5 ml bleibt (Abb. 1).

Test	ml GSH-Lösung (enthält 826 γ /ml)	GSH γ /ml Test	$\Delta E \cdot 10^3$
1.	0,02	4,72	044
2.	0,05	11,81	112
3.	0,08	18,90	181
4.	0,10	23,62	223
5.	0,12	28,34	265

Abb. 1: Eichkurve.



GSH (reduziert) wurde von BOEHRINGER, Mannheim, bezogen. Methylglyoxal wurde freundlicherweise von Herrn Dr. MATSCHINSKI zur Verfügung gestellt, ebenso 0,3 ml Glyoxalase I zu Testversuchen. Die Herstellung des Fermentes Glyoxalase I erfolgte nach der Vorschrift von FLEISCHMANN und RACKER: 1 Pfund Bäckerhefe wird gekrümelt und in dünner Schicht zwischen zwei Blättern Papier 4-5 Tage bei Raumtemperatur getrocknet.

1. Stufe: 300 g der getrockneten Hefe werden mit 900 ml einer 0,066 m Na_2HPO_4 -Lösung 2 Stunden lang bei 37°C unter gelegentlichem Schütteln extrahiert, dann weitere 3 Stunden bei 20°C geschüttelt. Die Mischung wird 80 Minuten bei 3000 U/Minute zentrifugiert, die überstehende Flüssigkeit abdekantiert und im Kühlschrank aufbewahrt. Der Rest wird erneut mit 300 ml 0,066 m Na_2HPO_4 -Lösung bei 37°C 2 Stunden extrahiert und dann zentrifugiert.
2. Stufe: Aceton-Fraktionierung: Zu je 100 ml der vereinigten Hefeextrakte fügt man langsam 50 ml eiskaltes Aceton während die Mischung in einem Eis-Alkohol-Bad auf etwa -2°C gehalten wird. Der entstandene Niederschlag wird durch Zentrifugieren bei 0°C abgetrennt und weggeworfen. Zu je 100 ml des Überstandes gibt man 50 ml kaltes Aceton und hält die Temperatur wieder auf -2°C . Die Mischung wird wieder bei 0°C zentrifugiert und die überstehende Lösung weggeworfen. Der Niederschlag wird in etwa 150 ml kaltem Wasser suspendiert und über Nacht gegen fließendes Leitungswasser dialysiert.

Der Niederschlag wird durch Zentrifugieren entfernt und die klare, überstehende Lösung über Nacht bei -20°C im Kühlschrank aufbewahrt.

3. Stufe : Alkohol-Fraktionierung: Nach dem Auftauen wird das Enzym ausgefällt durch langsame Zugabe des gleichen Volumens 95 %igen Alkohols bei -6°C und anschliessend 45 Minuten bei 3000 Umdrehungen/Min. zentrifugiert. Der Niederschlag wird in 60 ml kaltem Wasser aufgenommen und 15 Minuten bei Zimmertemperatur geschüttelt. Nach dem Zentrifugieren wird der Niederschlag nochmals mit 20 ml H_2O extrahiert.
4. Stufe : Erhitzen: Die Extrakte werden in einem Wasserbad schnell auf 45°C erhitzt und 5 Minuten auf dieser Temperatur gehalten. Dann wird die Mischung wieder gekühlt und zentrifugiert. Der Niederschlag wird mit 20 ml H_2O gewaschen und die Filtrate werden zusammengegossen.
5. und 6. Stufe : Wiederholung der 3. und 4. Stufe mit der Ausnahme, dass 80 ml Aceton pro 100 ml Lösung verwendet werden. Der Niederschlag wird in 30 ml H_2O aufgenommen, und es wird auf 50°C erhitzt.
7. und 8. Stufe : Wiederholung der 3. und 4. Stufe mit der Ausnahme, dass 50 ml Alkohol pro 100 ml Lösung verwendet werden, dass der Niederschlag mit 15 ml H_2O aufgenommen und mit 5 ml H_2O gewaschen wird, und dass die Extrakte 8 Minuten auf 54°C erhitzt werden.
9. Stufe : Adsorption und Eluierung mit Alaunerde C :
Die Enzymlösung wird soweit verdünnt, dass sie 15 mg Protein pro ml enthält, und 35 mg Alaunerde C (20 mg trockene Substanz pro ml) werden pro 100 ml Lösung zugefügt. Nach 5 Minuten wird die Mischung in einem kalten Raum zentrifugiert und der Niederschlag einmal mit 60 ml (pro 100 ml Lösung) einer 0,01 m Kaliumphosphatpufferlösung vom pH 7,4 gewaschen. Die Waschflüssigkeit wird verworfen. Das Enzym wird dann eluiert durch Zugabe von 0,1 m Phosphatpufferlösung bei 37°C .

10. Stufe : $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Fraktionierung : Zu je 100 ml Eluat werden 40 g festes $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ hinzugegeben. Nach 15 Minuten zentrifugiert man die Mischung bei 1200 U/Min. Der Niederschlag wird verworfen. Zur überstehenden Flüssigkeit gibt man weitere 30 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ hinzu, um die Lösung zu sättigen. Die Mischung wird dann in der eiskühlten Zentrifuge bei 15000 U/Min. 25 Minuten lang zentrifugiert. Der Niederschlag wird in einem kleinen Volumen H_2O aufgenommen, und es wird ammoniakalische $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Lösung (pH=8) zugefügt, bis ein schwerer Niederschlag ausfällt. Dieser wird über Nacht in den Kühlschrank gestellt, und am nächsten Tag erscheinen dann die Kristalle.

Das Enzym kann bei -20°C ohne Aktivitätsverlust mehrere Monate aufbewahrt werden, verdünnte Lösungen sind jedoch instabil und müssen sofort verbraucht werden.

4. Enzymatische Bestimmung von Adenosinmonophosphorsäure und von Adenosindiphosphorsäure.

Die Methode stützt sich auf Angaben von LIPMAN und BÜCHER: Adenosindiphosphat wird in der durch Pyruvatkinase katalysierten enzymatischen Reaktion durch Phospho-enol-Pyruvat (PEP) zu Adenosintriphosphat (ATP) aufphosphoriert:

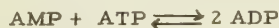


Die Pyruvatmenge, die der vorliegenden ADP-Konzentration äquivalent ist, wird enzymatisch bestimmt:



Die verbrauchte DPN-H-Menge ist äquivalent der umgesetzten ADP-Menge.

AMP wird nach dem gleichen Prinzip wie ADP bestimmt, indem man es unter Katalyse durch Myokinase mit Hilfe des aus der ADP-Bestimmung gewonnenen ATP in ADP überführt:



Die Reagenzien wurden von der Firma BÖHRINGER, Mannheim bezogen. Die Arbeitsvorschrift, nach welcher die Methode

durchgeführt wurde, stammt ebenfalls von der Firma BÖHRINGER: Man pipettiert in ein Zentrifugenglas 5 ml eiskalte, 6 %ige Perchlorsäure und 5 ml Blut, mischt die Substanzen mit einem Glasstab und zentrifugiert sie 15 Minuten bei 3000 U/Min. 4 ml des Überstandes werden mit 1 ml Triäthanolamin-Puffer (1 m Triäthanolaminhydrochlorid, 1,3 m K_2CO_3) versetzt und auf 25 ° C gebracht. Von dieser Lösung pipettiert man 2 ml in eine 10 mm-Küvette, dazu 0,15 ml Phospho-enol-Pyruvat (10^{-2} m Phospho-enol-Pyruvat, 1,3 m KCl, 0,4 m $MgSO_4$), 0,1 ml reduziertes Diphosphopyridinnucleotid ($5 \cdot 10^{-3}$ m DPN-H) und 0,02 ^{ml} Lactatdehydrogenase. Nachdem man die Substanzen mit einem Glasstab gut vermischt hat, wartet man den Stillstand der Reaktion ab (nach etwa drei Minuten) und misst dann bei 366 m μ die Extinktion E_1 . Anschließend mischt man 0,02 ml Pyruvatkinase in die Küvette ein und liest nach Stillstand der Reaktion die Extinktion E_2 ab. Die Extinktionsdifferenz $E_1 - E_2$ gibt den Gehalt an ADP an. Eine Extinktion von 0,100 entspricht - Messung bei 366 m μ und 10 mm Schichtlänge - 0,0700 - Mol ADP = 29,9 ADP in 2,29 ml Küvettenlösung. Um den ADP-Gehalt im ml des untersuchten Blutes zu erhalten, sind die bei der Enteiweissung und der Neutralisation der Perchlorsäure eingetretenen Verdünnungen zu berücksichtigen. Die Gesamtverdünnung ist

$$\frac{9,24}{5} \cdot \frac{5}{4} \cdot \frac{1}{2} = 1,155$$

Der ADP-Gehalt des Blutes errechnet sich aus dem Produkt

$$\Delta E \cdot 29,9 \cdot 1,155 = \text{mg\% ADP im Blut.}$$

Zur Ermittlung des AMP-Gehaltes im Blut setzt man nach Messung der Extinktion E_2 der Küvette 0,02 ml Myokinase zu und liest nach dem Stillstand der Reaktion die Extinktion E_3 ab. Analog dem Beispiel der ADP-Bestimmung errechnet sich der AMP-Gehalt folgendermassen:

$$E_2 - E_3 = \Delta E_{AMP}$$

$$\Delta E_{AMP} \cdot 12,15 \cdot 1,155 = \text{mg\% AMP im Blut.}$$

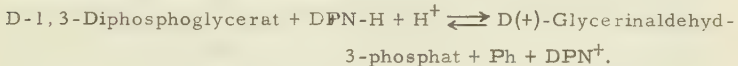
5. Enzymatische Bestimmung von Adenosintriphosphorsäure

Die Methode wurde nach der Arbeitsvorschrift von BÖHRINGER nach folgendem Prinzip durchgeführt:

Unter Mitwirkung des Enzyms Phosphoglycerokinase wird ATP in ADP übergeführt:



Die gebildete Menge D-1, 3-Diphosphoglycerat bestimmt man mit der durch Glycerinaldehydphosphatdehydrogenase (GAPDH) katalysierten Indikatorreaktion:



Der DPN-H-Verbrauch ist ein Mass für die vorliegende ATP-Menge.

Man bestimmt den ATP-Gehalt, indem man 1 ml des zu untersuchenden Blutes zu 1 ml 6%iger Perchlorsäure in ein Zentrifugenglas pipettiert, gut durchmischt und bei 3000 U/Min. fünf Minuten zentrifugiert. Der Überstand wird auf 25 ° C erwärmt. - Man pipettiert dann nacheinander in eine 10 mm-Küvette 2,40 ml eines Reaktionsgemisches, zusammengesetzt aus 0,10 m Triäthanolaminpuffer vom pH 7,6, $4 \cdot 10^{-3}$ m Magnesiumsulfat, $6 \cdot 10^{-3}$ m 3-Phosphoglycerat, 0,04 ml reduziertes Diphosphopyridinnucleotid(DPN-H) und 0,20 ml Probelösung(Überstand), mischt die Substanzen und liest bei 366 mμ die Extinktion ab. Nach Zusatz von 0,04 ml Glycerinaldehydphosphatdehydrogenase/Phosphoglyceratkinase liest man abermals die Extinktion ab. Eine Extinktionsdifferenz von 0,100 entspricht für die Messung bei 366 mμ 0,0303 μMol/ml DPN-H, somit ebenso vielen μ- Molen ATP/ml oder im Küvetteninhalt von 2,68 ml^{bei} 10 mm Schichtlänge 0,0812 μ Mol ATP oder 41,18 μ ATP. Die Gesamtverdünnung des Blutes ist 9,25 : 1. Der ATP-Gehalt des Blutes beträgt also

$$\Delta E \cdot 41,18 \cdot 9,25 \text{ mg\%}.$$

6. Bestimmung der Ascorbinsäure im Blut

Diese Methode wurde von M. VAN EEKELEN, A. EMMERIE und L. K. WOLFF ausgearbeitet und von TAUBER, KLEINER und MANCEAU verbessert. Sie beruht auf der Titration der Ascorbinsäure gegen 2,6-Dichlorphenolindophenol in saurem Milieu nach TILLMANN-S-HARRIS. Da dieser Indikator für Ascorbinsäure nicht spezifisch ist, müssen die anderen im Blut vorkommenden reduzierenden Substanzen entfernt werden. Das geschieht durch Zugabe von Hg-Acetat zum Blutextrakt, das alle störenden Substanzen niederschlägt. Die Ascorbinsäure bleibt gelöst, ist aber jetzt in reversibel-oxydierter Form vorhanden. Sie wird deshalb vor der Titration reduziert mit H_2S .

Die Ascorbinsäurebestimmung wird folgendermassen durchgeführt: Zu 20 ml Blut gibt man 25 mg Kaliumoxalat als Gerinnungsschutzmittel, 20 ml 10%ige Trichloressigsäure und 10 ml 20%ige Hg-Acetatlösung, die einige Tage vor Gebrauch fertiggestellt wurde, und mischt jedes Mal gut. Um den Trichloressigsäureüberschuss zu neutralisieren, gibt man soviel $CaCO_3$ p. a. hinzu, bis Kongorotpapier nicht verfärbt und Blaulackmuspapier rot gefärbt wird. Sofort danach wird 1 bis 2 Minuten zentrifugiert, der Überstand filtriert und mit H_2S unter dauerndem Rühren durchströmt. Zwischen der Trichloressigsäurezugabe und dem Durchleiten von H_2S dürfen höchstens 8 Minuten vergehen, da das Vitamin sonst teilweise irreversibel oxydiert wird. Das überflüssige Quecksilber fällt als Sulfid aus und wird abfiltriert. Das Filtrat wird nochmals mit H_2S durchströmt, gut verkorkt und 12 Stunden im Dunkeln aufbewahrt. Danach wird das H_2S durch einen sauerstofffreien Stickstoffstrom vollständig vertrieben. Nachdem man mit Bleiacetatpapier kontrolliert hat, dass kein H_2S mehr in der Lösung enthalten ist, pipettiert man 5 ml davon

und 1 ml 10%ige Trichloressigsäure in ein Porzellanschälchen und titriert mit 2,6-Dichlorphenolindophenol solange, bis Rotfärbung auftritt, die mindestens 5 **Sekunden** anhält.

Der Indikator wird folgendermassen hergestellt:

100 mg 2,6-Dichlorphenolindophenol werden in 500 ml destilliertem Wasser gelöst und filtriert. Danach gibt man eine Messerspitze NaHCO_3 hinzu und stellt diese Lösung gegen kristallinische Ascorbinsäure ein: 1 mg Ascorbinsäure verbraucht 10,6 ml Indikatorlösung. (Der Indikator muss vor jedem Versuch kontrolliert werden!).

Der Ascorbinsäuregehalt errechnet sich aus dem Verbrauch der Indikatorlösung dividiert durch 10,6 und multipliziert mit 10, weil von insgesamt 50 ml Extrakt, die 20 ml Blut enthalten, nur 5 ml, also $1/10$, zum Test eingesetzt werden. In 100 ml Blut sind dann

$$\frac{5 \cdot 10 \cdot \text{Indikatorverbrauch in ml}}{10,6} \text{ mg Ascorbinsäure enthalten.}$$

Die Methode ist mit einem Fehler von 4 - 5 % behaftet.

ERGEBNISSE

Es wurden an insgesamt 43 schizophrenen Patientinnen Blutuntersuchungen vor, während und nach der therapeutischen Insulinhypoglykämie durchgeführt. In den ersten 21 Fällen wurden die Blutzucker- und die Glukosekonzentrationen, in den folgenden 22 Fällen ausserdem die Glutathion-, Ascorbinsäure-, ATP-, ADP- und AMP-Konzentrationen in den verschiedenen Phasen der Hypoglykämie bestimmt. Die einzelnen Ergebnisse sind in Tab. A und Tab. B. zusammengestellt.

Der klinische Verlauf eines jeden Komas wurde protokolliert. Diese Protokolle und die dazugehörenden Glukose- und Restreduktionskurven bilden die Grundlage für die Diskussion über die Zusammenhänge zwischen Komaverlauf bzw. Komatiefe einerseits und Glukose- bzw. Restreduktions-Kurvenverlauf andererseits. Zur Erleichterung der klinischen Beurteilung der Hypoglykämietiefe wurde die KÜPPER'sche Unterteilung des Insulinkomas in ein Präkoma, ein Koma und ein Erwachensstadium beibehalten.

Als Präkoma bezeichnen wir jenes Stadium, in dem der Patient bewusstseinsgestört ist, auf grobe Reize träge reagiert und motorische Reizerscheinungen zeigt.

"Koma liegt mit dem Zeitpunkt vor, in dem Reaktionslosigkeit des Patienten auf Zuruf und nachhaltige Berührung eintritt, der Patient also auf keine Weise zu irgend einem Grad von Bewusstsein, d. h. Wachsein zu bringen ist" (KÜPPERS). Wir verstehen also unter Koma im engeren Sinne eine tiefe Hypoglykämie, die durch eine empirisch gefundene Komadosis erzielt und zu therapeutischen Zwecken eine bestimmte Zeit gehalten wird. Koma bedeutet für uns nicht soviel wie Anzeige zur lebensrettenden Hypoglykämieunterbrechung, was im Hinblick auf SAKEL's Komadefinition ausdrücklich betont sei (v. BRAUNMÜHL).

1. Glukose und Restreduktion des Blutes unter dem Einfluss von Insulin

Die quantitative Bestimmung des Blutzuckers erfolgte sowohl nach der Methode von HAGEDORN-JENSEN als auch enzymatisch. Eine Gegenüberstellung der Ergebnisse findet sich in Tab. A. Der Übersichtlichkeit halber sind hier von je 12 Blutzucker- und Glukosebestimmungen einer Versuchsreihe nur folgende Werte eingetragen:

der Nüchternwert (Mittel aus 3 Bestimmungen)

der Blutzucker- und der "wahre Glukose"-Gehalt 30 Minuten nach Insulininjektion

der maximale Blutzucker mit dem dazugehörenden "wahren Glukose"-Wert im Präkoma

der Blutzucker- und "wahre Glukose"-Gehalt im Koma kurz vor der Zuckergabe

der Blutzucker- und der "wahre Glukose"-Gehalt 35 Minuten nach der Zuckergabe.

Die Differenz der nach der Methode von HAGEDORN-JENSEN ermittelten Blutzuckerwerte und der enzymatisch bestimmten Glukosewerte gibt die Grösse der Restreduktion des Blutes in Glukoseäquivalenten an (s. Tab. B).

79% aller Insulinhypoglykämien mit Koma verliefen folgendermassen:

a) Verlauf der Glukose- und Restreduktionskurve (s. Abb. 2) :

Sofort nach der Insulininjektion begann der Glukosespiegel, der normal bei 71,2 mg% durchschnittlich lag, abzusinken. Bereits 20 - 25 Minuten nach der Insulingabe betrug die Glukosekonzentration nur noch 50% des Ausgangswertes und nach weiteren 10 Minuten etwa 18 %. In der folgenden Stunde blieb sie im

wesentlichen unverändert. Erst im Präkoma und Koma sank sie langsam weiter ab und erreichte kurz vor dem "Wecken", d. h. nach 1/2-stündiger Komadauer, Werte von durchschnittlich 3,7 mg%. In einem Falle waren nach 1/2 Stunde tiefster Bewusstlosigkeit noch 11 mg % Glukose im Blute enthalten, in zwei anderen Fällen dagegen war keine Glukose mehr nachweisbar.

Die Höhe des Glukoseausgangswertes (Normalwert), sowie die Höhe der Insulindosis hatten auf den Grad und die Geschwindigkeit des Blutzuckersturzes keinen Einfluss.

Während die Glukosekurve im Verlauf der Insulinhypoglykämie von durchschnittlich 71,2 auf 3,7 mg%, also um 95% sank, stieg die Restreduktionskurve im Durchschnitt von 19,9 mg% auf 27,3 mg%, also um 37 % an. Der Anstieg begann in der Regel in der zweiten Insulinstunde. Die höchsten Werte wurden meistens im Präkoma mit 23 - 31 mg% gemessen. In der vierten Insulinstunde nahm die Restreduktion wieder allmählich ab und betrug im Koma 22,6 mg% durchschnittlich.

Bereits 20 - 30 Minuten nach der Verabreichung von Rohrzucker waren sowohl die Glukosewerte als auch die Restreduktionswerte wieder normal.

b) Klinischer Verlauf des Insulinkomas:

Während in der ersten und zweiten Insulinstunde nur vegetative Symptome beobachtet wurden, traten in den folgenden Stunden cerebrale Symptome, wie choreatisch-athetotische Bewegungen, pathologische Reflexe, Bewusstlosigkeit, Verlust des Anblas-, Licht-, und zuletzt des Cornealreflexes hinzu.

Der Anblas- und der Lichtreflex waren im Koma immer, der Cornealreflex dagegen nur in 65% der Fälle negativ. Die Pupillen waren unmittelbar vor Komaeintritt in der Regel maximal erweitert, im Koma nur noch stecknadelkopfgross. Pathologische Reflexe (BABINSKI, OPPENHEIM, ROSSOLIMO) konnten nur in

80% der Fälle ausgelöst werden; kurz vor dem "Wecken" waren sie wieder negativ. Diese Symptome waren weder an eine bestimmte Insulindosis noch an absolute Glukosewerte gebunden. Die schwersten cerebralen Symptome wurden jeweils bei den niedrigsten Glukosewerten am Ende der vierten Insulinstunde beobachtet.

Als Beispiel eines klinischen Komaverlaufs sei das Protokoll der Brigitte K., 15 Jahre, wiedergegeben:

4.50 Uhr Injektion von 150 E Altinsulin (BRUNNENGRÄBER-Insulin)

5.20 Uhr Patientin ist schläfrig und schwitzt.

6.20 Uhr Tachycardie, leichte Hypotonie, stärkeres Schwitzen, deutliche Kontaktverlangsamung. Die reflektorische Beantwortung grober Reize ist prompt.

7.00 Uhr Wahrnehmungsstörungen, motorische Erregung, Verwirrtheit; Aphasie, Apraxie, Agnosie. Die reflektorische Beantwortung grober Reize erfolgt träge.

7.10 Uhr Myoklonische Zuckungen, Primitivbewegungen des Mundes.

7.20 Uhr Präkoma: Torsionsspasmen, choreatisch-athetotische Bewegungen der Finger und Zehen. Reflexsteigerungen, Reflexdifferenzen, Zwangsgreifen.

8.10 Uhr Speichelfluss, Hyperhidrosis universalis, allgemeine Torsionskrämpfe einheitlicher Richtung. Keine primitiven Mundbewegungen und kein Zwangsgreifen mehr.

8.30 Uhr Pathologische Reflexe, zunächst nur rechts, etwas später auch links auslösbar : BABINSKI, OPPENHEIM, ROSSO-LIMO. Anblasreflex abgeschwächt, Cornealreflex gut auslösbar, Pupillen maximal erweitert.

8.40 Uhr Koma: tiefe Bewusstlosigkeit, selbst auf grobe Reize

erfolgt keine Reaktion mehr;tonische Extensions-
spasmen,Anblasreflex nicht mehr auslösbar,keine
Lichtreaktion,Pupillen stechnadelkopfgross,Tonus-
verlust der Oberlider,keine pathologischen Reflexe.

8.50 Uhr Cornealreflex erloschen.

9.10 Uhr Verabreichung von 170 g Rohrzucker in 0,25 Liter
Tee mittels Magensonde.

9.20 Uhr Keine Spasmen.Anblas- und Cornealreflex positiv.
Pupillen reagieren auf Licht.Die Reaktionen erfol-
gen noch träge.

9.30 Uhr Patientin ist wieder ansprechbar.

9.45 Uhr Patientin ist kontaktfähig,macht aber noch einen be-
nommenen Eindruck.

In 20,9% der Fälle wurden folgende Abweichungen von dem
oben beschriebenen Komaverlauf beobachtet:

a) Der Glukosespiegel,der in der Regel in der ersten halben
Stunde nach Verabreichung der Insulindosis rasch,in den fol-
genden Stunden nur noch langsam,aber ständig abfiel,stieg bei
dieser Patientengruppe vorübergehend wieder um 11 % im
Durchschnitt an.In 6 von 9 Fällen lag dieser Anstieg im
Präkoma (Abb. 3),in 3 Fällen im Koma (Abb. 4). Bemer-
kenswert ist,dass im Präkoma eine Zunahme der Glukose-
konzentration meist dann auftrat,wenn der Glukosespiegel
bereits in der 2. oder 3. Insulinstunde auf Werte,wie sie
sonst nur im Koma gemessen wurden,abgesunken war.

b) Der klinische Komaverlauf zeigte bei einem Wieder-
anstieg des Glukosegehaltes im Präkoma folgende Beson-
derheit: etwa 2 Minuten nach dem Anstieg der Glukosekon-
zentration wurde eine Erhöhung der Reaktionsbereitschaft
und Ansprechbarkeit des Patienten festgestellt,die jedoch
nur von kurzer Dauer war.

Obwohl die niedrigsten Glukosewerte in zwei Fällen nicht im Koma, sondern vor der Wiedererhöhung des Glukosespiegels im Präkoma gemessen wurden, traten hier nur leichte hypoglykämische Symptome auf. Die schwersten Erscheinungen wurden stets am Ende der 4. Insulinstunde beobachtet.

Die zur Komaauslösung notwendige Insulindosis (Komadosis) betrug im Durchschnitt 170 E. Tiefe und Plötzlichkeit des Blutzuckersturzes wurden bei Dosen von 20 E Insulin an aufwärts nicht mehr verändert. Bei niedrigen Insulindosen wurden in der Regel keine cerebralen Symptome beobachtet, da die Blutzuckersenkung infolge der Gegenregulation nicht lange anhielt. In einigen Fällen traten jedoch schon bei Dosen von 50 E schwere cerebrale Symptome auf, in anderen dagegen erst bei 300 E.

Erwähnt sei, dass bei meteorologischem Frontenwechsel eine deutliche Steigerung der motorischen Unruhe im Präkoma und eine Verlängerung der Erwachensphase beobachtet wurden. Die Glukose- und Restreduktionskurven zeigten jedoch keine auf diese klinischen Erscheinungen hindeutenden Besonderheiten ihres Verlaufes.

2. Glutathion, Ascorbinsäure, ATP, ADP und AMP unter dem Einfluss von Insulin

Die Erhöhung der Restreduktionswerte im Blut während der therapeutischen Insulinhypoglykämie hat mich veranlasst, die hauptsächlich an der Restreduktion beteiligten Stoffe quantitativ zu bestimmen, um zu erfahren, welche Substanzen den Anstieg bedingen. Die einzelnen Ergebnisse sind in Tab. B zusammengefasst. Der Übersichtlichkeit halber wurden von

6 Glutathion-, 5 Ascorbinsäure-, 6 ATP-, 4 ADP- und 4 AMP-Bestimmungen einer Versuchsreihe nur folgende Werte eingetragen: jeweils der unmittelbar vor der Insulingabe ermit-

telte Normalwert (Mittel aus 2 Bestimmungen)

der dem höchsten Restreduktionswert im Präkoma entsprechende Glutathion- und Ascorbinsäurewert,

der 30-40 Minuten nach Insulininjektion bestimmte ATP-Wert,

der im Koma kurz vor dessen Unterbrechung bestimmte Glutathion-, Ascorbinsäure- und ATP-Wert und

jeweils der mittlere ADP- und AMP-Wert in der Insulinhypoglykämie.

a) Glutathion: Der normale mittlere Glutathiongehalt des Blutes bei Schizophrenen betrug 27 mg %. Während der Insulinhypoglykämie stieg die Glutathionkonzentration auf durchschnittlich 39,1 mg %, also um 44,7 % an. Das Maximum der Glutathionkurve lag in der Regel im Präkoma. In 83 % der Fälle fiel es zeitlich mit dem Maximum der Restreduktionskurve zusammen. Das Ausmass der Glutathionzunahme war von der Höhe der Insulindosis unabhängig; es schwankte sehr stark von Patient zu Patient und auch bei ein und demselben Patienten innerhalb von Wochen. Der höchste Glutathionwert wurde mit 52 mg % bei der Patientin Ilse I., 27 Jahre, im Präkoma gemessen. Im Koma sank die Glutathionkonzentration wieder beträchtlich ab und betrug kurz vor dem "Wecken" 31 mg % im Durchschnitt.

b) Ascorbinsäure (Vitamin C): Der mittlere Ascorbinsäuregehalt des Blutes lag bei 1,4 mg %. Er schwankte nicht nur von Patient

zu Patient, sondern auch bei ein und demselben Patienten innerhalb weniger Tage sehr stark. Während der Insulinhypoglykämie sank der Ascorbinsäuregehalt von durchschnittlich 1,4 mg% auf 0,89 mg% im Präkoma und auf 0,53 mg% im Koma. Der Sättigungsgrad des Blutes mit Vitamin C betrug also im Präkoma 63,5 % und im Koma nur noch 38 % vom Ausgangswert. Die Höhe der verabreichten Insulindosis hatte keinen Einfluss auf den Grad der Ascorbinsäuresenkung. Nach dem "Wecken" normalisierte sich der Ascorbinsäurespiegel des Blutes innerhalb von einigen Stunden.

In diesem Zusammenhang sei auf die Beobachtung hingewiesen, dass nach täglicher Verabreichung von 1 g Vitamin C per os die Erwachensphase verkürzt war.

c) Adenosintriphosphorsäure (ATP): Die Normalwerte lagen zwischen 18 und 27 mg%. Die höchsten Werte wurden in der Mehrzahl der Fälle 25 -55 Minuten nach der Insulingabe mit durchschnittlich 24,7 mg% gemessen. Der ATP-Spiegel des Blutes stieg also in den ersten 55 Minuten der Insulinhypoglykämie um 9 % an. Im weiteren Verlauf der Hypoglykämie sank er wieder auf Normalwerte ab. In einem von insgesamt 22 Fällen konnte keine, in weiteren 5 Fällen nur eine geringe Schwankung der ATP-Konzentration festgestellt werden. Eine Relation des ATP-Anstiegs zur Höhe der Insulindosis besteht nicht.

d) Adenosindiphosphorsäure (ADP) und Adenosinmonophosphorsäure (AMP): Wie aus Tab. B zu ersehen ist, schwankten die ADP- und AMP-Werte von Patient zu Patient beträchtlich; der mittlere ADP-Gehalt betrug 3,9 mg%, der mittlere AMP-Gehalt 1,1 mg%. Während der Insulinhypoglykämie blieben die ADP- und AMP-Konzentrationen im Blut im wesentlichen unverändert.

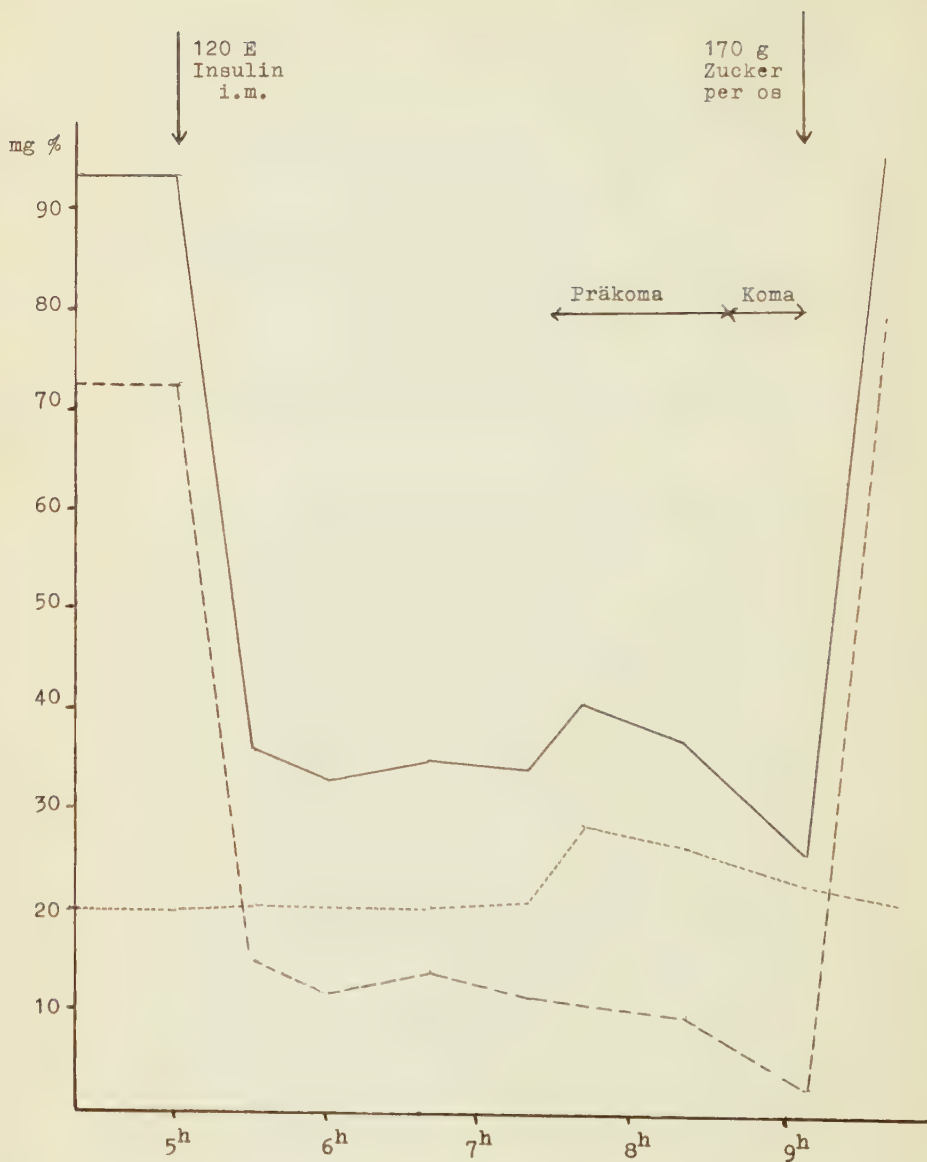


Abb.2 : — Blutzucker
 --- Glukose
 Restreduktion

Tabelle A: Gegenüberstellung der nach der Methode von HAGEDORN-JENSEN bestimmten "Blutzucker"-Werte und der enzymatisch ermittelten "wahren" Glukosewerte vor, während und nach der insulinären Hypoglykämie. In Fällen, in denen ein Wiederanstieg der Glukosekurve beobachtet wurde, sind in Klammern die vor diesem Anstieg gemessenen minimalen Werte mitangegeben, wenn der Anstieg im Präkoma lag, die maximalen, wenn er im Koma lag (Siehe dazu Abb.2 bzw. Abb.3).

Laufende Nr.	Alter	Zahl der vorausgegangenen Koma	Insulinindizes in Einheiten	Nüchternwerte in mg% (vor der Insulininjekt. best.)		30 Min. nach Insulin		im Präkoma (max. "Blutzucker" u. dazugehörige Glukosewerte	im Koma (unmittelbar vor dem Wecken)	35 Min. nach der Zuckergabe			
				"Blut-zucker"	"wahre" Glukose	"Blut-zucker"	"wahre" Glukose			"Blut-zucker"	"wahre" Glukose		
1	14	250	250	92	73	32	13	38	8	26	4	83	63
2	29	9	50	83	65	35	16	39	14	24	3	90	71
3	13	14	100	90	71	27	9	33	8	22	0	87	68
4	33	1	300	91	71	33	13	38	10	25	1	125	105
5	13	54	180	79	60	29	10	35	9	26	3	96	76
6	24	5	250	92	72	33	112	38	10	25	2	79	59
7	15	4	280	93	72	31	10	40	(6)14	28	5	73	54
8	25	18	180	96	77	35	16	39	13	34	9	83	64
9	20	30	80	91	71	30	10	33	6	24	2	97	77
10	20	19	100	94	75	33	13	36	10	29	6	130	109
11	32	4	180	89	69	29	8	38	(4)14	22	1	104	83
12	24	22	200	105	83	34	12	40	12	32	7	98	77
13	19	17	120	98	78	37	16	41	11	30	4	117	97
14	17	3	100	87	68	30	11	32	6	23	0	91	71
15	32	8	200	84	63	29	10	37	11	27	5	79	59
16	29	6	250	86	67	34	12	39	(3)11	24	2	87	66
17	18	25	180	90	68	36	15	35	10	26	3	72	52
18	21	1	250	82	62	32	13	39	12	25	2	85	67
19	26	5	180	91	70	33	11	40	8	27	4	94	74
20	31	22	200	104	83	26	6	39	11	25	4	92	71
21	21	22	50	112	91	36	15	36	9	28	(14)2	91	71
22	26	3	100	83	63	38	18	42	12	31	11	82	61
23	22	13	120	94	73	36	15	41	12	26	3	99	78
24	19	16	150	101	81	32	10	36	10	24	3	99	77
25	17	17	170	78	60	30	11	31	6	21	(11)1	105	85
26	29	30	120	96	77	33	14	38	11	25	2	97	76
27	26	9	130	88	68	34	13	44	(1)16	24	3	80	60
28	32	21	180	99	78	31	11	39	9	27	4	120	99
29	21	4	120	86	66	31	11	34	8	27	3	86	66
30	24	19	100	91	71	32	12	38	12	26	4	89	69
31	28	6	120	81	61	33	12	35	11	30	7	82	61
32	21	5	180	94	73	34	14	39	12	23	1	87	67
33	31	26	220	92	72	32	12	37	6	25	3	92	72
34	24	12	180	86	67	30	9	41	(9)18	26	6	109	89
35	23	17	200	103	83	39	19	44	13	32	7	94	76
36	23	8	130	92	73	35	14	36	10	27	4	94	75
37	22	8	200	90	69	32	12	39	(2)13	27	4	90	69
38	27	26	70	87	66	32	12	41	9	27	2	89	69
39	18	13	150	96	77	32	12	35	12	26	(15)4	95	75
40	21	9	280	78	60	35	15	36	13	23	3	88	69
41	30	3	150	85	65	36	16	38	8	30	6	101	82
42	15	29	150	101	82	33	13	34	9	29	4	93	73
43	29	2	250	89	69	32	12	37	8	28	5	114	93
Mittel	23,3	13,8	170	91,1	71,2	32,7	12,5	37,9	10,6	26,3	3,7	93,9	73,8

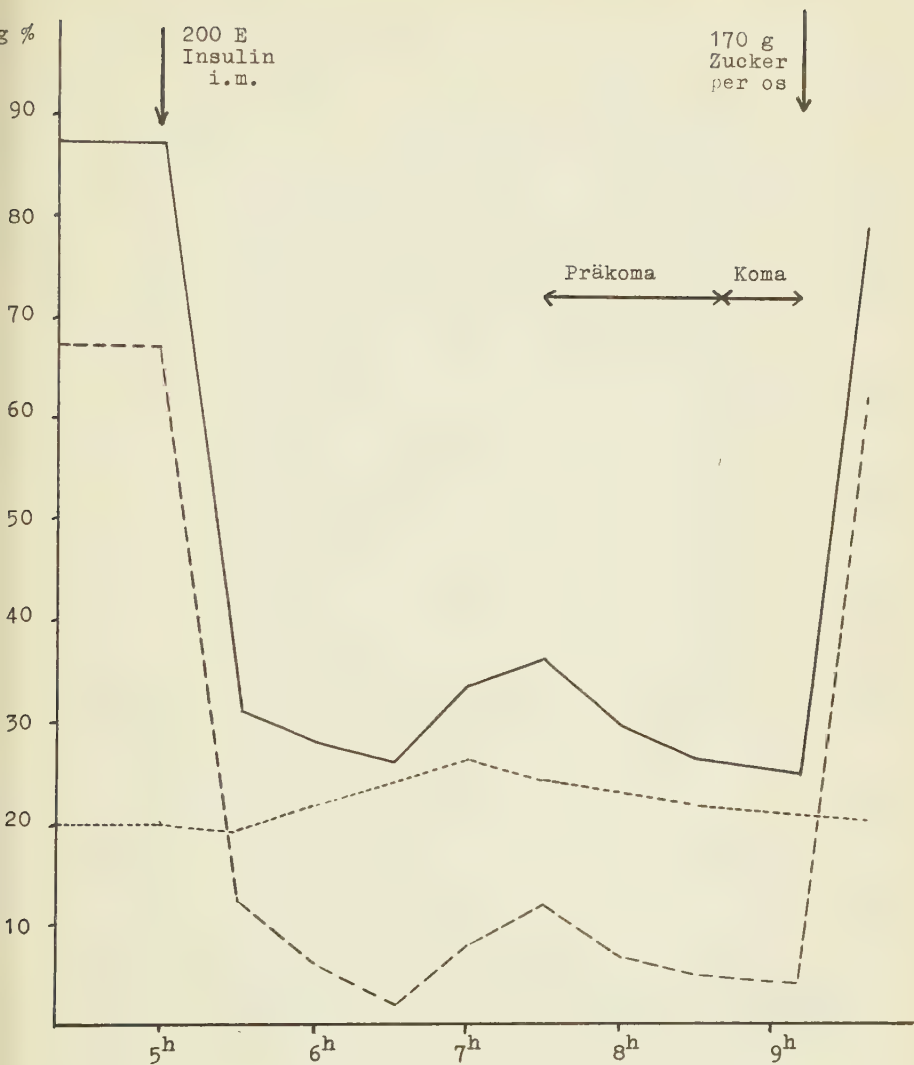


Abb.3 : ——— Blutzucker
 - - - - - Glukose
 Restreduktion

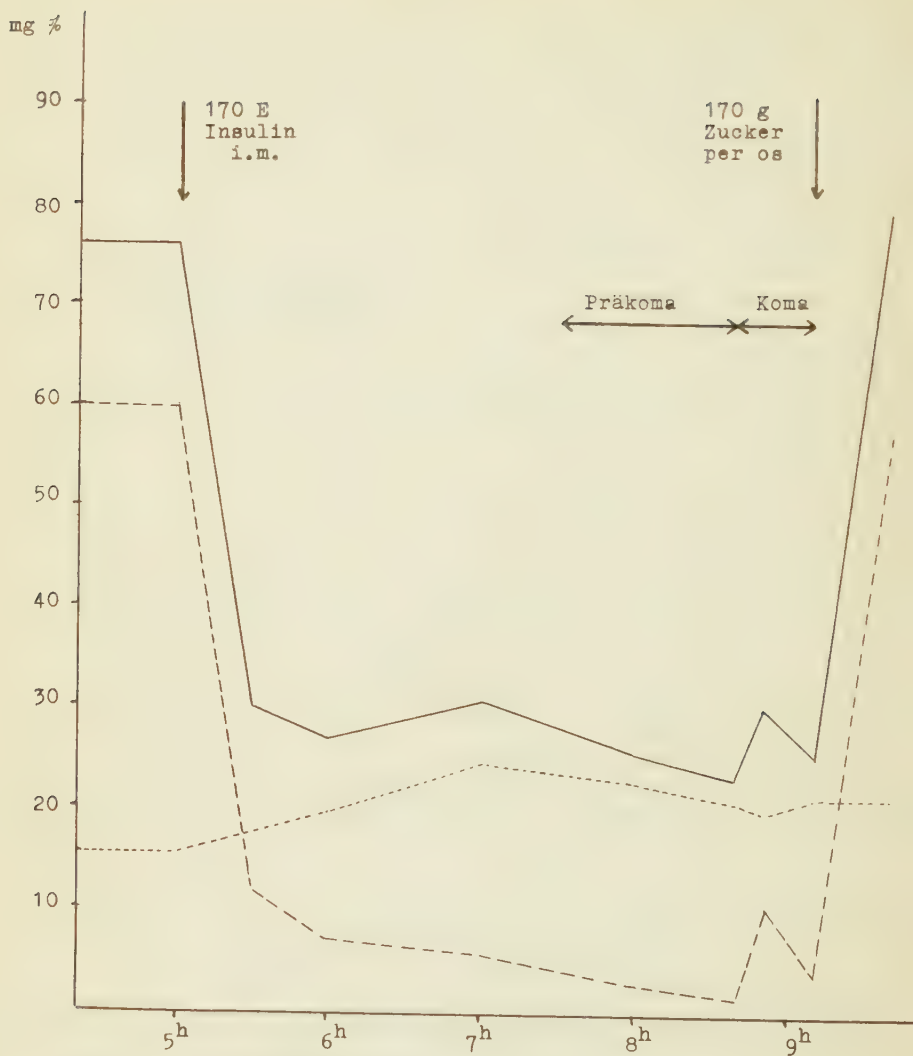


Abb.4: — Blutzucker
 --- Glukose
 Restreduktion

Tabelle B: Zusammenstellung der Restreduktions-, Glutathion-, Ascorbinsäure-, Adenosintriphosphorsäure-, Adenosindiphosphorsäure- und Adenosinmonophosphorsäure-Werte des Blutes vor und während der insulinären Hypoglykämie.

Laufende Nr.	Insulindosis in Einheiten	Restreduktion in mg% Glukose			Glutathion in mg%			Ascorbinsäure in mg%			A T P in mg%			A D P in mg%		A M P in mg%	
		Normal	im Präkoma	im Koma	Normal	im Präkoma	im Koma	Normal	im Präkoma	im Koma	Normal	40-50 Min. nach Insulin	im Koma	Normal	In der Hypoglyk- aemie	Normal	In der Hypoglyk- aemie
22	100	20	30	20	26	40	26	1,4	0,9	0,5	23	25	23	4,4	4,5	0,7	0,7
23	120	21	29	23	32	49	36	1,6	1,2	0,7	26	28	27	2,6	2,8	0,9	0,8
24	150	20	26	21	26	35	28	1,4	0,5	0,4	19	19	19	4,3	4,2	1,3	1,4
25	170	18	25	20	28	43	32	1,5	1,3	0,5	16	18	17	3,9	3,7	1,0	1,0
26	120	19	27	23	25	39	30	0,9	0,6	0,3	25	28	25	3,5	3,7	1,0	0,9
27	130	20	28	21	24	33	25	1,8	1,7	0,9	25	26	25	4,8	4,8	1,2	1,0
28	180	21	30	23	26	40	33	1,4	0,8	0,6	27	30	28	3,7	3,8	0,9	0,8
29	120	20	26	24	-	-	-	1,5	1,0	0,6	26	27	26	4,0	4,1	0,8	0,8
30	100	20	26	22	26	36	29	1,4	0,7	0,4	23	25	22	3,9	3,9	1,4	1,5
31	120	20	24	23	29	38	33	1,3	1,1	0,5	19	21	18	3,8	3,6	--	--
32	180	21	27	22	27	38	29	1,7	1,1	0,8	24	24	23	4,6	4,6	1,2	1,4
33	220	20	31	22	27	40	28	2,0	1,3	1,0	25	26	25	3,3	3,2	1,1	1,1
34	180	19	23	20	26	33	25	1,2	0,8	0,4	23	24	21	4,1	4,3	0,8	0,9
35	200	20	31	25	28	46	39	1,4	0,9	0,6	22	26	24	4,6	4,8	1,4	1,3
36	130	19	26	23	25	36	31	1,2	0,4	0,3	21	23	21	3,8	3,7	1,2	1,3
37	200	21	26	24	27	35	29	1,2	0,7	0,5	23	27	24	3,7	3,8	0,8	0,9
38	70	21	32	25	31	52	41	1,8	1,5	0,8	24	26	24	4,3	4,3	0,9	0,8
39	150	19	23	22	27	36	28	1,0	0,4	0,2	20	20	19	-	-	1,0	1,0
40	280	18	23	20	25	35	30	1,4	0,8	0,5	18	21	19	2,9	3,0	1,3	1,2
41	150	20	30	24	29	42	35	1,6	1,2	0,5	27	31	27	4,5	4,4	1,2	1,2
42	150	19	25	25	27	38	38	1,4	0,5	0,4	19	20	19	3,7	3,9	0,9	0,9
43	250	20	29	23	25	37	26	0,9	0,2	0,2	25	27	24	3,0	3,2	1,3	1,5
Mittel		19,9	27,1	22,5	27	39,1	31	1,4	0,89	0,53	22,7	24,7	22,7	3,9	3,9	1,1	1,1

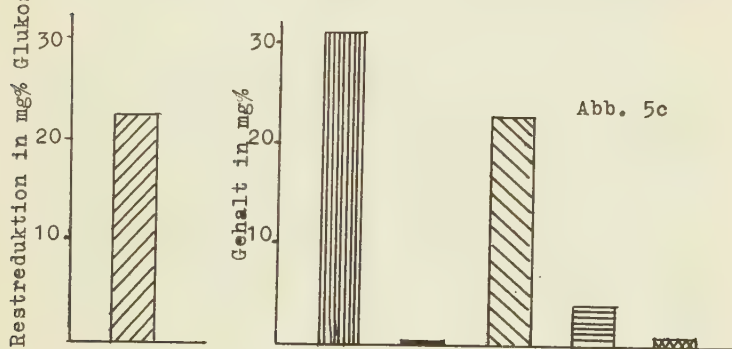
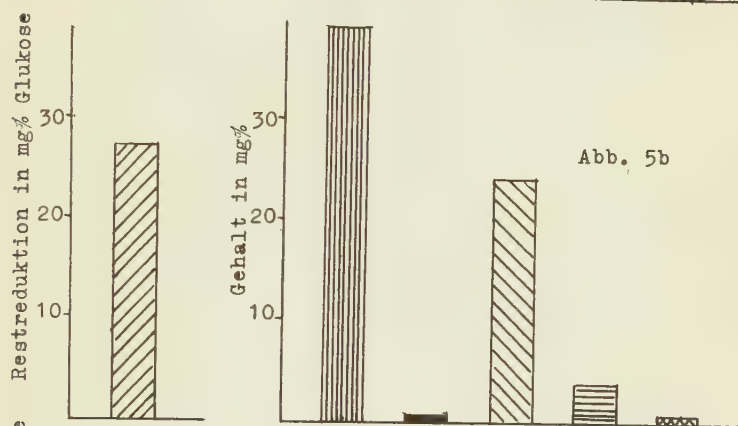
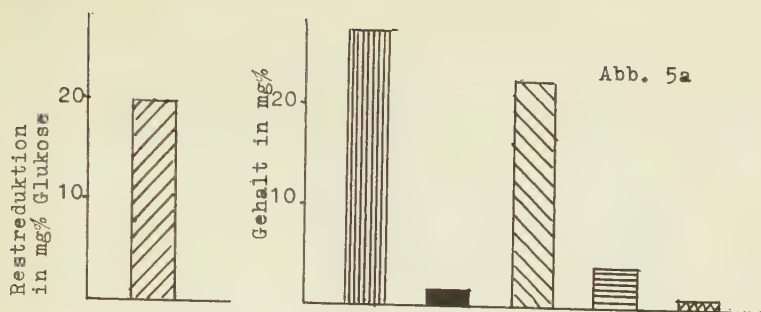


Abb. 5: Restreduktion, Glutathion-, Ascorbinsäure-, ATP-, ADP- und AMP-Gehalt des Blutes
 a) bei normaler Stoffwechsellaage
 b) nach der Insulininjektion im Präkoma
 c) im Koma

Restreduktion in
Glukoseäquivalenten
 Ascorbinsäure
(red.u.oxyd.)
 ADP

Glutathion
(red.u.oxyd.)
 ATP
 AMP

STATISTISCHER TEST

Die in den Tabellen A und B zusammengestellten Untersuchungsergebnisse wurden mit dem Student-t-Test unter Anwendung folgender Formeln auf ihre Signifikanz geprüft:

- 1) Standardabweichung des Mittelwertes oder Streuung um den Mittelwert

$$\sigma_x = \pm \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n-1}}$$

Dabei bedeutet x = Einzelbeobachtung bzw. -messung

$\bar{x}$ = Arithmetisches Mittel bzw. Mittelwert

$$= \frac{\sum x}{n}$$

n = Anzahl der Beobachtungen bzw. -messungen

- 2) Fehler des arithmetischen Mittels bzw. des Mittelwertes oder Streuung des Mittelwertes

$$\sigma_{\bar{x}} = \pm \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n(n-1)}}$$

Die Symbole sind unter 1) erklärt.

- 3) t-Verhältnis $t = \frac{\bar{x}}{\sigma_x}$

Das t-Verhältnis liegt für die einzelnen n tabelliert vor.

Verwendet wurden die Tabellen aus "Statistical tables for biological, agricultural and medical research" von FISHER and YATES. Hier ist für jedes t-Verhältnis, das zu einem bestimmten Freiheitsgrad gehört (der Freiheitsgrad für den Mittelwert ist gleich $n-1$), die statistische Sicherung (angegeben in Spalte 5 der Tabellen A', A'' und B') abzulesen.

$P(t)$ = Wahrscheinlichkeit von t

$P(t) > 99,9$	sehr gut gesichert
$99,9 > P(t) > 99$	gut gesichert
$99 > P(t) > 98$	gesichert
$98 > P(t) > 95$	schwach gesichert
$95 > P(t)$	schlecht gesichert (Gefahr der Zufälligkeit).

4) Statistische Sicherung der Differenz zweier Mittelwerte

$$t = \frac{\bar{x}_i - \bar{x}_j}{\sqrt{(\sigma_{\bar{x}_i})^2 + (\sigma_{\bar{x}_j})^2}}$$

Dieser Test kann nicht durchgeführt werden, wenn die Anzahl der Freiheitsgrade zweier Mittelwerte voneinander verschieden ist, wie das in Tabelle B der Fall ist. Um auch hier feststellen zu können, ob der Mittelwert eines Stoffes bei normaler Stoffwechsellaage gut von dem Mittelwert im Präkoma und ob dieser wiederum gut von dem Mittelwert im Koma unterschieden ist, haben wir die 3 - Sigma - Regel angewandt. Man bildet zu den zu vergleichenden Mittelwerten $\bar{x}_i$ und $\bar{x}_j$ die Intervalle $\bar{x}_i \pm 3\sigma_{\bar{x}_i}$ und $\bar{x}_j \pm 3\sigma_{\bar{x}_j}$ und untersucht, ob eine Überschneidung dieser Intervalle vorliegt.

Besteht keine Überschneidung zwischen den Intervallen, so kann die Differenz $\bar{x}_i - \bar{x}_j$ der Mittelwerte $\bar{x}_i$ und $\bar{x}_j$ als gesichert gelten. Besteht jedoch eine Überschneidung der Intervalle, so ist die Differenz der untersuchten Mittelwerte nicht oder nur schlecht gesichert, d. h. sie kann zufällig sein.

Testergebnisse

1. Testergebnisse zu Tabelle A

Tabelle A ¹	$\bar{x}$	σ_x	$\sigma_{\bar{x}}$	t	$P_{(t)}$	n
	1	2	3	4	5	6
nüchtern	Blutz. 91,14	$\pm 7,52$	$\pm 1,15$	12,12	$>99,9$	43
	Glukose 71,47	$\pm 7,19$	$\pm 1,10$	9,94	$>99,9$	43
30' nach Insulin	Blutz. 32,70	$\pm 2,76$	$\pm 0,42$	11,85	$>99,9$	43
	Glukose 12,51	$\pm 2,61$	$\pm 0,40$	4,79	$>99,9$	43
im Präkoma	Blutz. 37,67	$\pm 2,95$	$\pm 0,45$	12,77	$>99,9$	43
	Glukose 10,58	$\pm 2,66$	$\pm 0,41$	3,98	$>99,9$	43
im Koma	Blutz. 26,42	$\pm 2,88$	$\pm 0,44$	9,17	$>99,9$	43
	Glukose 3,70	$\pm 2,27$	$\pm 0,35$	1,63	90-80	43
35' nach Insulin	Blutz. 94,14	$\pm 12,76$	$\pm 1,95$	7,38	99,9	43
	Glukose 73,84	$\pm 12,67$	$\pm 1,93$	5,83	99,9	43

Diskussion der Testergebnisse in Tabelle A¹: Alle Mittelwerte sind gut gesichert, bis auf den Mittelwert der Glukose im Koma. Hier liegt der Verdacht nahe, dass bei den einzelnen Patienten im Koma ein unterschiedliches Verhalten der Glukosekurve vorliegt, so z. B. bei den Versuchspersonen 21, 25 und 39, die, wie aus Tabelle A hervorgeht, einen anderen Reaktionstyp zeigen als die übrigen Testpersonen.

Tabelle A^{II}

$\bar{x}_i - \bar{x}_j = D$	S_D	t	P _(t)
2	3	4	5
$\bar{x}_1 - \bar{x}_2 = 53,47$	1,23	43,472	>99,9
$\bar{x}_1 - \bar{x}_3 = 64,72$	1,23	52,618	>99,9
$\bar{x}_2 - \bar{x}_3 = 11,25$	0,63	17,857	>99,9
$\bar{x}_1' - \bar{x}_2' = 60,89$	1,17	52,043	>99,9
$\bar{x}_1 - \bar{x}_3' = 67,77$	1,15	58,930	>99,9
$\bar{x}_2' - \bar{x}_3' = 6,88$	0,54	12,741	>99,9
$\bar{x}_1 - \bar{x}_1' = 19,67$	1,59	12,434	>99,9
$\bar{x}_1 - \bar{x}_2' = 80,56$	1,22	66,033	>99,9
$\bar{x}_1 - \bar{x}_3' = 87,44$	1,20	72,867	>99,9
$\bar{x}_2 - \bar{x}_1' = 33,80$	1,19	28,403	>99,9
$\bar{x}_2 - \bar{x}_2' = 27,09$	0,61	44,410	>99,9
$\bar{x}_2 - \bar{x}_3' = 33,97$	0,57	59,596	>99,9
$\bar{x}_3 - \bar{x}_1' = 45,05$	1,18	38,178	>99,9
$\bar{x}_3 - \bar{x}_2' = 15,84$	0,60	26,400	>99,9
$\bar{x}_3 - \bar{x}_3' = 22,72$	0,56	40,571	>99,9

Dabei bedeutet $S_D = \sqrt{(\sigma_{\bar{x}_i})^2 + (\sigma_{\bar{x}_j})^2}$

$t = D / S_D$

$P_{(t)} =$ Statistische Sicherung des Mittelwertes in v. H.

$\bar{x} =$ Mittelwert aus n Messungen

$x_1 =$ Nüchternblutzucker in mg%

$x_2 =$ Blutzucker im Präkoma in mg%

$x_3 =$ Blutzucker im Koma in mg%

$x_1' =$ "wahre Glukose" in mg% nüchtern

$x_2' =$ "wahre Glukose" in mg% im Präkoma

$x_3' =$ "wahre Glukose" in mg% im Koma

Diskussion der Testergebnisse in Tabelle A^{II}: Aus Tabelle A^{II} ist

ersichtlich, dass die Differenzen zwischen allen Mittelwerten sehr gut gesichert sind.

2. Testergebnisse zu Tabelle B :

Tabelle B'		$\bar{x}$	σ_x	$\sigma_{\bar{x}}$	t	P(t)	n
		1	2	3	4	5	6
Restreduktion	normal	19,82	$\pm 0,91$	$\pm 0,19$	21,78	$>99,9$	22
	Präkoma	27,14	$\pm 2,78$	$\pm 0,59$	9,76	$>99,9$	22
	Koma	22,50	$\pm 1,65$	$\pm 0,35$	13,64	$>99,9$	22
Glutathion	normal	26,95	$\pm 2,01$	$\pm 0,44$	13,41	$>99,9$	21
	Präkoma	39,10	$\pm 5,00$	$\pm 1,09$	7,82	$>99,9$	21
	Koma	31,00	$\pm 4,62$	$\pm 1,01$	6,71	$>99,9$	21
Ascorbinsäure	normal	1,41	$\pm 0,28$	$\pm 0,06$	5,04	$>99,9$	22
	Präkoma	0,89	$\pm 0,38$	$\pm 0,08$	2,34	98»95	22
	Koma	0,53	$\pm 0,21$	$\pm 0,05$	2,52	99»98	22
ATP	normal	22,73	$\pm 3,10$	$\pm 0,66$	7,33	$>99,9$	22
	50 n. Ins.	24,64	$\pm 3,55$	$\pm 0,76$	6,94	$>99,9$	22
	Koma	22,73	$\pm 3,19$	$\pm 0,68$	7,13	$>99,9$	22
ADP	normal	3,88	$\pm 0,59$	$\pm 0,13$	6,58	$>99,9$	21
	Hypogl.	3,91	$\pm 0,56$	$\pm 0,12$	6,98	$>99,9$	21
AMP	normal	1,06	$\pm 0,22$	$\pm 0,05$	4,82	$>99,9$	21
	Hypogl.	1,07	$\pm 0,25$	$\pm 0,06$	4,28	$>99,9$	21

Diskussion der Testergebnisse in Tabelle B' : Aus Tabelle B'

geht hervor, dass der Mittelwert der Ascorbinsäure im Präkoma nur schwach gesichert ist. Daraus folgt, dass bei den einzelnen Testpersonen im Präkoma u. U. ein unterschiedliches Verhalten der Ascorbinsäurekonzentrationskurve vorliegt (s. u.).

Der Mittelwert der Ascorbinsäure im Koma ist gesichert. Der Mittelwert der Ascorbinsäure bei normaler Stoffwechsellaage, sowie alle Mittelwerte der Restreduktion, des Glutathions und der ATP, und die Mittelwerte der ADP und der AMP sind sehr gut gesichert.

Die statistische Sicherung der Differenzen zwischen den einzelnen Mittelwerten wurde mittels der 3 - Sigma - Regel errechnet. Die Ergebnisse sind folgende:

Der Restreduktionsanstieg und der -abfall sind statistisch gesichert, ebenso die Tatsache, dass die Restreduktion im Koma höher ist als bei normaler Stoffwechsellage.

Der Anstieg der Glutathionkonzentration im Präkoma und die Abnahme im Koma sind statistisch gesichert. Statistisch fraglich ist jedoch, ob der Glutathiergehalt im Koma immer grösser ist als bei normaler Stoffwechsellage.

Statistisch gesichert ist auch der Abfall der Ascorbinsäurekonzentration im Verlauf der Insulinhypoglykämie. Da der Mittelwert der Ascorbinsäure im Präkoma aber nur schwach gesichert ist, ist es möglich, dass der Ascorbinsäuregehalt im Präkoma bereits den Stand der Ascorbinsäure im Koma erreicht hat (z. B. bei den Testpersonen 24, 36, 42 und 43) und umgekehrt, dass im Präkoma keine wesentliche Abnahme der Ascorbinsäure erfolgt, sondern dass diese erst im Koma einsetzt (z. B. bei den Testpersonen 25 und 27).

Der Anstieg der Adenosintriphosphorsäure während der experimentellen Hypoglykämie ist statistisch nicht gesichert, da sich das Intervall $\bar{x}_{\text{normal}} + 3\sigma_{\text{normal}}$ mit dem Intervall $\bar{x}_{\text{nach Insulin}} + 3\sigma_{\text{nach Insulin}}$ überschneidet.

DISKUSSION

1.) Methodik : Wie zu erwarten war, lagen die nach der Methode von HAGEDORN und JENSEN ermittelten "Blutzucker"-Werte erheblich höher als die enzymatisch bestimmten Glukosewerte, da beim reduktometrischen Nachweis aller reduzierenden Substanzen des Blutes erfasst werden, während die enzymatische Methode spezifisch für Glukose ist. Bei einem "Blutzucker"-Gehalt von durchschnittlich 91 mg% bei normaler Stoffwechsellage ermittelten wir einen Glukosewert von nur 71,5 mg% im Durchschnitt. Der durch die Restreduktion bedingte Fehler der HAGEDORN-JENSEN-Methode beträgt hier 21,5 %. Dieser Fehler wird um so kleiner, je höher der Glukosespiegel ansteigt und um so grösser, je tiefer er absinkt (Abb. 6). Wie wir an einem umfangreichen Untersuchungsgut zeigen konnten, geht die Erhöhung des Fehlers bei Insulinhypoglykämie nicht nur auf den Anstieg des prozentualen Anteils der Restreduktion mit dem Grad der Hypoglykämie sondern auch auf eine absolute Zunahme der Restreduktion zurück (s. Tab. A). Bei einer geringgradigen Hypoglykämie von 64 mg% (HAGEDORN-JENSEN-Wert) betrug der "wahre Glukose"-Gehalt 41,5 mg%; der prozentuale Anteil der Restreduktion am "Blutzucker" und damit der Fehler der HAGEDORN-JENSEN-Methode 35,1 %. Nach den ersten 30 Minuten der Insulinhypoglykämie wurden "Blutzucker"-Werte von durchschnittlich 32,7 mg% und Glukosewerte von durchschnittlich 12,5 mg% gemessen. Die HAGEDORN-JENSEN-Werte sind hier bereits mit einem Fehler von 62 % behaftet. Im Präkoma betrug der mittlere "Blutzucker"-Gehalt 37,7 mg%, der mittlere Glukosegehalt 10,6 mg%; die Ungenauigkeit der "Blutzucker"-Werte ist hier 71,9 %. Obwohl im Koma die Restreduktionswerte wieder niedriger wurden, stieg der Fehler der reduktometrischen Methode auf 85,9 % an, da der Glukosespiegel rascher als die Restreduktion absank. In zwei Fällen war keine Glukose mehr nachweisbar, der "Blutzucker" wurde nur noch von der Restreduktion bestritten; der Fehler der HAGEDORN-JENSEN-Methode ist hier also 100 %.

Die zur Kontrolle papierchromatographisch nach der Methode von WALLENFELS ermittelten Glukosewerte stimmten bei Berücksichtigung der unterschiedlichen methodischen Fehler mit den enzymatisch bestimmten Werten überein.

Diese Untersuchungen beweisen eindeutig die Unspezifität der "Blutzucker"-Bestimmungsmethode nach HAGEDORN-JENSEN.

Noch grösser ist die Ungenauigkeit der Methoden von BANG-HATTLEHOL, BANG-EGE, FOLIN-WU, LEWIS-BENEDICT, HÖST-HATTLEHOL und EGE-RASMUSSEN, die ebenfalls auf den reduzierenden Eigenschaften der Zucker beruhen. Deshalb wurde die Methode von HAGEDORN-JENSEN den letzteren vorgezogen.

Auf die Ungenauigkeit der HAGEDORN-JENSEN-Methode wiesen in anderem Zusammenhang bereits BAUMGARTEN und WALTER, BANG, JENN, VENDEG, SCHMIDT und VOGEL hin.

Aus diesen Arbeiten und unseren Untersuchungen geht hervor, dass eine reduktometrische Blutzuckerbestimmungsmethode bei wissenschaftlichen Untersuchungen fehl am Platz ist, da sie völlig falsche Vorstellungen über die vom Gehirn verbrauchte und die dem Gehirn während der Insulinhypoglykämie noch zur Verfügung stehende Glukosemenge vermittelt. Sie muss hier durch die enzymatische Methode, die mit Glukoseoxydase durchgeführt wird, ersetzt werden. Die Glukoseoxydase stellt in Bezug auf ihre Spezifität das zuverlässigste Reagenz auf Glukose dar, das wir bis heute kennen. Ausser der Spezifität hat die enzymatische Methode gegenüber der Blutzuckerbestimmungsmethode nach HAGEDORN-JENSEN den Vorzug der technisch einfacheren und zeitlich rascheren Durchführbarkeit.

Die HAGEDORN-JENSEN-Methode, die seiner Zeit BANTING und BEST die quantitative Blutzuckerbestimmung ermöglichte und damit eine wichtige Voraussetzung für die Entdeckung des Insulins bildete, ist heute in jeder Hinsicht überholt. Sie sollte nicht nur bei wissenschaftlichen Untersuchungen, sondern auch im klinischen Routinebetrieb durch die enzymatische Methode ersetzt werden.

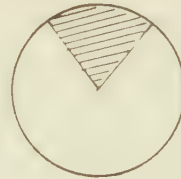
Abb. 6: Darstellung des durch die Restreduktion bedingten Fehlers der nach der Methode von HAGEDORN und JENSEN ermittelten Blutzuckerwerte :

a) bei Hyperglykämie

b) bei normaler Stoffwechsellaage



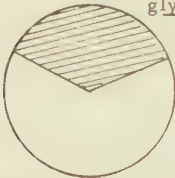
"Blutzucker" 300 mg%
 "wahre Glukose" 275 mg%
 Fehler d. H. -J. -Methode 8,3%



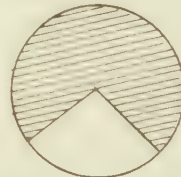
"Blutzucker" 91 mg%
 "wahre Glukose" 71,5 mg%
 Fehler d. H. -J. -Methode 21,5%

c) bei geringgradiger Hypo-
glykämie

d) im Präkoma



"Blutzucker" 64,0 mg%
 "wahre Glukose" 41,5 mg%
 Fehler d. H. -J. -Methode 35,1%



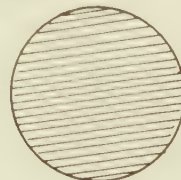
"Blutzucker" 37,7 mg%
 "wahre Glukose" 10,6 mg%
 Fehler d. H. -J. -Methode 71,9%

e) im Koma

f) im Koma



"Blutzucker" 26,4 mg%
 "wahre Glukose" 3,7 mg%
 Fehler d. H. -J. -Methode 85,9%



"Blutzucker" 22,0 mg%
 "wahre Glukose" 0 mg%
 Fehler d. H. -J. -Methode 100%

H. -J. = HAGEDORN-JENSEN

2.) Restreduktion : Die Restreduktion wird von den einzelnen Autoren unterschiedlich hoch angegeben. Nach LOHMANN kann sie bis 40 mg% betragen. GRAFE und SORGENFREY fanden Werte von etwa 30 mg%. Sie ermittelten die Restreduktion direkt, indem sie die Reduktionskraft des Blutes vor und nach Vergärung der Glukose untersuchten.

Wir bestimmten die Gesamtreduktionskraft des Blutes (den sog. "Blutzucker") nach der Methode von HAGEDORN-JENSEN und den absoluten Glukosegehalt des Blutes (die sog. "wahre Glukose") enzymatisch mit Glukoseoxydase. Die Differenz zwischen dem "wahren Glukose"- und dem "Blutzucker"-Wert ergibt die Restreduktion; sie wurde von uns mit 19,9 mg% durchschnittlich ermittelt. Bestimmt man den Blutzucker nach EGE-RASMUSSEN, HÖST-HATTLEHOL, LEWIS-BENEDICT, FOLIN-WU, BANG-EGE oder nach BANG-HATTLEHOL, so erhält man höhere Restreduktionswerte. Die Abweichungen der einzelnen Untersuchungsergebnisse sind auf die Verwendung verschiedener Oxydations- und Eiweissfällungsmittel zurückzuführen.

Die oben angegebenen Restreduktionswerte sind jeweils bei Stoffwechselgesunden bestimmt worden. Bei Diabetikern fand LOHMANN höhere Restreduktionswerte. Wir ermittelten die Restreduktion sowohl bei normaler Stoffwechsellaage als auch im therapeutischen Insulinkoma und beobachteten in den ersten Phasen der Insulinhypoglykämie einen Restreduktionsanstieg und in der letzten Phase wieder einen geringen Restreduktionsabfall (s. Tab. A).

Das Maximum der Restreduktion lag bei unseren Untersuchungen mit einem Durchschnittswert von 27,1 mg% in 74 % der Fälle im Präkoma. In 79 % der Fälle fiel das Maximum der Restreduktionskurve zeitlich mit dem Maximum der Glutathionkurve zusammen. Wir schliessen daraus, dass der Restreduktionsanstieg während der Insulinhypoglykämie in erster Linie auf der Zunahme des Glutathiongehaltes beruht, die fast ausschliesslich auf einer Erhö-

hung des Gehaltes an reduziertem Glutathion zurückgeht(MÜSE-BECK).

Aus Tabelle A geht ferner hervor, dass der prozentuale Anteil der Restreduktion an der Gesamtreduktion während der experimentellen Hypoglykämie erheblich ansteigt: er beträgt durchschnittlich bei normaler Stoffwechsellage 21,8 %, im Präkoma 71,5 % und im Koma 85,5 %. Dieser Anstieg des prozentualen Anteils der Restreduktion an der Gesamtreduktion beruht einmal auf der absoluten Zunahme der Restreduktion, zum anderen auf der Abnahme der Glukosekonzentration unter dem Einfluss von Insulin.

Unsere Untersuchungen und die Angaben von LOHMANN lassen den Schluss zu, dass keine konstante Relation zwischen Restreduktions- und Glukosekurve besteht.

3.) Glukose: Unsere Untersuchungen erbrachten das unerwartete Ergebnis, dass dem Gehirn während des vierstündigen therapeutischen Insulinkomas bereits nach den ersten 30 Minuten nur noch durchschnittlich 12,5 mg% Glukose, im Präkoma durchschnittlich 8,4 mg% und im eigentlichen Koma nur noch durchschnittlich 4,1 mg% Glukose (30-Minuten-Durchschnitt) zur Verfügung stehen. Unmittelbar vor der Komaunterbrechung waren im Blut nur noch durchschnittlich 3,7 mg% Glukose vorhanden. Bei zwei Patientinnen sank der Glukosespiegel bereits 4 bzw. 3 Minuten vor dem "Wecken" auf 0 mg% ab; das Gehirn lebte also hier einige Minuten ganz ohne Glukose. Wir schliessen daraus, dass das Nervengewebe bei akutem Glukosemangel ausnahmsweise andere Substanzen als Verbrennungssubstrate verwertet. Aus Arbeiten von HIMWICH und Mitarbeitern und WORTIS und Mitarbeitern wissen wir, dass die Milchsäure als Energielieferant herangezogen wird. Die Milchsäurekonzentration des Gehirns sinkt während der Insulinhypoglykämie bis auf 14 % des Ausgangswertes ab. Nach Unter-

suchungen von KERR, HIMWICH, FAZEKAS sowie von KNAUFF und Mitarbeitern werden sogar hirneigene Substanzen wie Glykogen, Aminosäuren (Glutaminsäure, Glutamin, γ -Aminobuttersäure, Alanin, Glykokoll, Isoleucin, Leucin, Threonin, Valin, Arginin, Histidin, Prolin) und Phosphatide energetisch genutzt. Ein Abbau dieser, zu den Strukturbestandteilen des Nervengewebes gehörenden Stoffe führt selbstverständlich von einem gewissen Grade an zu schwer reparablen oder irreversiblen Schäden. Das Gehirn greift deshalb nur bei lebensbedrohendem Glukosemangel auf diese Substanzen zurück. Es versucht zunächst, mit der vom Blut angebotenen Glukosemenge auszukommen, einmal durch kompensatorische Einschränkung des Hirnstoffwechsels (HIMWICH, KETY, FAZEKAS u. a.), die zu einer Einsparung von Glukose führt, zum anderen durch reaktive Steigerung der Hirndurchblutung (FAZEKAS, BESSMAN, ALTMAN) und der gerichteten Permeabilität (BEIGLBOCK), wodurch die Zuckerverwertung des Gehirns bis zu 25 % verbessert wird.

Neben diesen hirneigenen Mechanismen wirken extracerebrale Faktoren der drohenden Nährstoffmangelhypoxydose des Gehirns entgegen: die gesteigerte gegenregulatorische Adrenalinausschüttung, die in der Insulinhypoglykämie bis zu $1\frac{1}{2}$ kg/Min. gegenüber 0,1 - 0,5 $\frac{1}{2}$ kg/Min. bei normalem Zuckerspiegel betragen kann, hält den Residualzuckerspiegel im Interesse des Gehirns möglichst hoch. Die im Insulinkoma auftretende Verschiebung des Säure-Basen-Gleichgewichtes zur sauren Seite (DIENST) verstärkt die Adrenalinwirkung und schwächt die Insulinwirkung ab.

Dank dieser hyperglykämisierenden Faktoren wird ein völliger Zusammenbruch des Residualzuckerspiegels verhütet. Die Glukosekonzentration hält sich, nachdem sie in den ersten 30 Minuten

nach Insulinverabfolgung um 82,4 % vom Ausgangswert abgesunken ist, für 2 - 2 1/2 Stunden auf Werten von durchschnittlich 10 mg%. In der Kompensationsphase kann damit der Energiebedarf des Gehirns weitgehend gedeckt werden. Erst in der Dekompensationsphase folgt die echte Nährstoffmangelhypoxydose mit schweren cerebralen Symptomen, die zusätzlich Energie fordern, indem sie eine Steigerung des Hirnstoffwechsels um 50 - 75 % mit sich bringen. Die Folge ist ein weiteres Absinken des Glukosespiegels und ein verstärkter Abbau körneigener Substanzen. Je weiter die Stoffwechselreserven absinken, desto mehr Hirnabschnitte fallen der Nährstoffmangelhypoxydose zum Opfer. Entsprechend der von cranial nach caudal abnehmenden Hypoxydoseempfindlichkeit des Gehirns, die der jeweiligen Stoffwechselaktivität der einzelnen Grisea parallel geht, schreitet die Nährstoffmangelhypoxydose und der dadurch bedingte Abbau der cerebralen Integrationsleistung (JACKSON) von cranial nach caudal fort. Wir beobachten deshalb im therapeutischen Insulinkoma zuerst corticale Ausfallserscheinungen (Benommenheit, Somnolenz, vegetative Reizerscheinungen), dann subcorticale (Sopor, Bewusstlosigkeit, motorische Reizerscheinungen, allgemeine Excitation) und schliesslich mesencephale Ausfallserscheinungen (Koma, tonische Krämpfe, Torsionsspasmen, Streckstarre, Reflexverlust). Schreitet die Nährstoffmangelhypoxydose weiter fort, so tritt Enthirnungsstarre ein. Ein Überschreiten dieser Stufe hat eine irreversible Teilschädigung des Grosshirns zur Folge, auch wenn sofort ausreichend Glukose verabfolgt wird. Bleibt das Gehirn jedoch noch weiter im kritischen Glukosemangel, so fallen auch die bulbo-pontinen Grisea der Nährstoffmangelhypoxydose zum Opfer; der Mensch ist damit enthirnt. Sein Tod erfolgt schliesslich durch Atemlähmung.

Wir haben das therapeutische Insulinkoma mit Beginn der pontinen Phase durch Zuckerzufuhr unterbrochen. Die unmittelbar vorher bestimmte Blutglukosekonzentration lag zwischen 12 und 0 mg%. In einigen Fällen waren jedoch im Präkoma die Glukosewerte niedriger

als im eigentlichen Koma. Die schwersten cerebralen Symptome beobachteten wir jedoch stets im eigentlichen Koma, da die Nährstoffmangelhypoxydose hier, wie aus obigen Ausführungen hervorgeht, mehr Hirnabschnitte erfasst hat als im Präkoma. Das Auftreten bestimmter cerebraler Ausfallerscheinungen ist also nicht von der erreichten Tiefe des Glukosespiegels abhängig, wie das von SIGWALD angenommen wird, sondern vielmehr von der Dauer dieser tiefen Hypoglykämie. Dieses Ergebnis entspricht auch den Vorstellungen von MEYTHALER, STICH, WOLFF und HÖPKER.

ZIMMERMANN, RÖSSEL und WULLEN vertreten demgegenüber die Ansicht, dass die Dauer der tiefen Blutzuckerwerte für die Schwere der hypoglykämischen Symptome nicht ausschlaggebend ist. Sie stellten fest, dass die schwersten cerebralen Symptome erst dann auftraten, wenn der "Blutzucker" nach Erreichen des Tiefpunktes wieder etwas anstieg. Diese Beobachtung wurde durch unsere Untersuchung widerlegt. Wir fanden, dass der Blutzuckeranstieg gegen Ende der Insulinhypoglykämie in 79,1 % der Fälle alleine auf einen Anstieg der Restreduktion zurückging, nur in 20,9 % der Fälle wurde neben dem Restreduktionsanstieg eine geringe Erhöhung des Glukosespiegels registriert.

Aus Untersuchungen von MEYTHALER wissen wir, dass auch die vorgegebene funktionelle und strukturelle Verfassung des Gehirns für das Auftreten cerebraler Symptome mitverantwortlich ist. Das geht besonders deutlich aus seinen Untersuchungen bei Diabetikern hervor, bei denen er schwere cerebrale Symptome bei einem Blutzuckerspiegel von 200 mg% und höher beobachtete. Hier lagen sicher bereits Hirngefäßveränderungen vor, die zu cerebralen Glukoseverwertungsstörungen führten, so dass bei noch hohem, aber bereits sinkendem Glukosespiegel cerebrale Nährstoffmangelsyndrome auftraten.

MEYTHALER, STICH, WOLFF und HÖPKER glauben, dass die Höhe des Blutzuckerausgangswertes sowie die Geschwindigkeit des Blutzuckersturzes nach Verabfolgung von Insulin einen Einfluss auf die Schwere der hypoglykämischen Symptome haben. RÖSSEL und WULLEN sind gegenteiliger Meinung. Wir müssen auf Grund unserer Untersuchungen RÖSSEL und WULLEN beipflichten.

RÖSSEL und WULLEN erkannten ferner, dass Grad und Geschwindigkeit des Blutzuckersturzes von der Höhe der Insulindosis unabhängig sind. Diese Beobachtung wurde durch unsere Untersuchung bestätigt.

4.) Glutathion : Aus der Literatur sind einige Untersuchungen über Änderungen der Blut-Glutathion-Konzentration nach Insulinverabfolgung bekannt. Die einzelnen Angaben sind jedoch sehr widersprechend. So berichten OTERO, GAMBASSI und PIRE, sowie MÜSEBECK von einer Zunahme des Blut-Glutathion-Gehaltes nach Verabreichung von Insulin, während FRANKS und BYRNES bei Kaninchen und Mäusen keinen Effekt des Insulins auf die Glutathionkonzentration beobachten konnten. Diese Diskrepanzen zwischen den einzelnen Arbeiten beruhen sicher auf der Anwendung unterschiedlicher, zum Teil unzulänglicher Untersuchungsmethoden.

Wir haben das Glutathion mit der auf den Seiten 42-47 beschriebenen enzymatischen Methode, die spezifisch für Glutathion ist, bestimmt und fanden eine Erhöhung der Glutathionkonzentration von 27 mg% auf 39,1 mg% im Durchschnitt, d. s. 44, 7 %. Wir können daraus den Schluss ziehen, dass Insulin in vivo die

Glutathionsynthese fördert. Eine Relation zwischen dem Grad des Glutathionanstieges und der Höhe der verabfolgten Insulindosis wurde nicht festgestellt : nach 100 E Altinsulin i. m. wurden ebenso grosse Glutathionzunahmen gemessen wie nach 300 E. Wie bei der Glukose scheint also auch hier der Grad der Glutathion-Konzentrations-Änderung von einer bestimmten Insulinschwellendosis an nicht mehr beeinflusst zu werden.

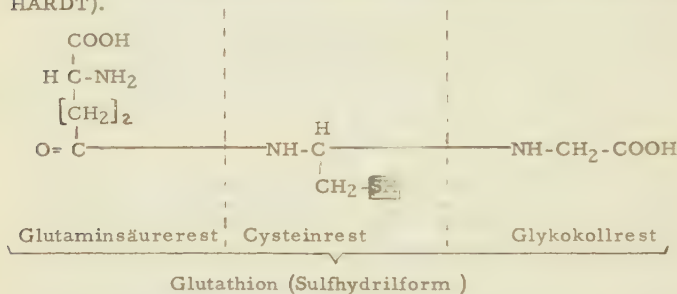
Eine Gegenüberstellung der Glutathionkurve und der Restreduktionskurve zeigte folgendes : in 9 % der Fälle fiel das Maximum der Glutathionkurve zeitlich mit dem Maximum der Restreduktionskurve zusammen. Daraus folgt, dass der Restreduktionsanstieg während der Insulinhypoglykämie in der Mehrzahl der Fälle auf eine Glutathionzunahme zurückgeht.

Vergleicht man die Glutathion-mit der Glukosekurve, so erkennt man in den ersten Phasen der Insulinhypoglykämie eine Zunahme des Glutathiongehaltes bei einem Abfall des Glukosespiegels. Die im Koma beobachtete Wiederabnahme des Glutathiongehaltes erklärt sich wahrscheinlich aus einem, nur in diesem Stadium stattfindenden Abbau des Glutathions zum Zwecke der Energiegewinnung.

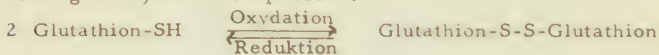
Zusammenfassend können wir feststellen, dass sich die Glutathionkonzentration des Blutes etwa direkt proportional zur Restreduktion- und etwa umgekehrt proportional zur Glukosekonzentration verhält. Analoge Beobachtungen machten MÜSEBECK, HESS, PLANCHERT und HOSSAY : MÜSEBECK injizierte Adrenalin oder Noradrenalin i. m. oder s. c. ; in 2/3 der Fälle (da der Gipfelwert der Glukose nicht immer erfasst werden konnte) fiel der maximale Glukosewert zeitlich mit dem minimalen Glutathionwert zusammen. HESS, PLANCHERT und HOSSAY untersuchten die Glutathionkonzentration im diabetischen Koma und fanden eine dem Blutzuckeranstieg parallel gehende Glutathionerniedrigung. Glutathion- und

Glukosekonzentrationen verhalten sich also auch nach Adrenalin- bzw. Noradrenalingaben und in der Hyperglykämie umgekehrt proportional.

Diese Untersuchungen über das Verhalten der Glutathionkonzentration nach Insulin- und nach Adrenalinverabfolgung und während der Hyperglykämie sprechen für eine Beteiligung des Glutathions am Kohlenhydratstoffwechsel, und zwar beruht die Wirkung des Glutathions auf der Sulfhydrylgruppe seines Cysteinrestes (GEBHARDT).



Die Sulfhydrylform (reduzierte Form) des Glutathions geht mit grosser Leichtigkeit in die Disulfidform (oxydierte Form) über und umgekehrt. Das Tripeptid Glutathion unterliegt also einem ständigen Oxyreduktionsprozess:



Für den normalen Ablauf des Zuckerumsatzes ist nur die Sulfhydrylform des Glutathions (Glutathion-SH) von Bedeutung, und zwar in zweifacher Hinsicht: einmal als freies Molekül, zum anderen als ein Co-Enzym der Triosephosphatdehydrogenase (oxydierendes Gärungsferment). Das freie Molekül Glutathion hat die Aufgabe, die Mercaptoenzyme, zu denen u. a. auch die Triosephosphatdehydrogenase gehört, vor Oxydationen und damit vor Inaktivierung zu schützen. Als Co-Enzym der Triosephosphat-

dehydrase katalysiert das Glutathion den Abbau der beim Zuckerumsatz entstehenden Aldehyde, in erster Linie den Abbau des Glycerinaldehydphosphats (FISCHER-Ester), das beim Glukoseabbau über die Zwischenstufen Glukose-6-Phosphat (NEUBERG-Ester), Fruktose-6-Phosphat, Fruktose-1, 6-Diphosphat (HARDEN-YOUNG-Ester) und Dioxyacetonphosphat entsteht. Die SH-Gruppe des Glutathions geht mit der Aldehydgruppe des Substrates eine Verbindung ein, die durch DPN, das zweite Co-Encym der Triosephosphatdehydrase (VELICK), oxydiert wird unter Bildung des Thiolesters des Enzyms. Der hohe Energiegehalt dieser R-S-CO-R-Bindung wird bei der phosphorolytischen Spaltung des Thiolesters auf die Anhydridbindung der 1, 3-Diphosphoglycerinsäure übertragen (RACKER), durch Vermittlung der Phosphoglyceratkinase in reversibler Reaktion an die Adenosindiphosphorsäure weitergereicht und als Adenosintriphosphorsäure konserviert.

Das Glutathion im Verband der Triosephosphatdehydrase spielt somit eine wichtige Rolle im Kohlenhydratumsatz, um so mehr, als es auch den Abbau anderer, beim Zuckerumsatz auftretender Aldehyde (Acetaldehyd) nach dem gleichen Mechanismus katalysiert (HARTING). Damit erklärt sich zum grossen Teil die Häufigkeit einer Kombination von Störungen des Kohlenhydratstoffwechsels (Diabetes) mit Vorgängen, die zu einer Verminderung des Glutathions und der SH-Verbindungen im Organismus führen und der günstige Einfluss, den SH-Verbindungen auf die diabetische Stoffwechsellaage ausüben.

Während das in der Triosephosphatdehydrase gebundene Glutathion einmal für den normalen Kohlenhydratumsatz, zum anderen für den Aufbau energiereicher, organischer Verbindungen von Bedeutung ist, hat das freie Glutathion die Aufgabe, das im Stoffwechsel unwirksam gewordene Ferment wieder zu reaktivieren. Freies Glutathion und das in dissoziierbarer Form in der Triosephosphatdehydrase gebundene Glutathion stehen damit in enger Beziehung zueinander.

Nachdem wir die Zusammenhänge zwischen Glutathion und Kohlenhydratstoffwechsel aufgezeigt haben, sei die Frage nach der Bedeutung des während der Insulinhypoglykämie beobachteten Blut-Glutathion-Anstiegs für den Organismus diskutiert. Aus Untersuchungen von VÖLKEl wissen wir, dass reduziertes Glutathion in vitro Insulin zu reduzieren und dadurch die gesteigerte Glukoseutilisation des Insulins aufzuheben vermag. Auf Verhältnisse in vivo übertragen würde das bedeuten, dass die Wirksamkeit von injiziertem oder oral verabfolgtem Insulin vom Glutathion-SH-Gehalt des Blutes und der Glutathion-SH-Zunahme abhängig ist. Aus unseren Ergebnissen kann jedoch kein Einfluss des Glutathions auf die Insulinempfindlichkeit bzw. die Hypoglykämiewirkung des Insulins abgeleitet werden. Allerdings liegen die zur Komaauslösung notwendigen Insulindosen auch sehr hoch. Es ist deshalb durchaus denkbar, dass die Hypoglykämiewirkung des Insulins bei Darreichung kleinerer Dosen vom Glutathiongehalt des Blutes messbar beeinflusst wird. Es wäre interessant, derartige Zusammenhänge zwischen Insulin und Glutathion zu untersuchen, indem man z. B. einer Reihe von Versuchstieren jeweils die gleiche Dosis Insulin i. m. und ausserdem jedem Tier eine verschieden grosse Menge Glutathion i. v. injiziert und den Glukosespiegel über 2 - 4 Stunden regelmässig kontrolliert.

Wenn Glutathion in vivo Insulin zu reduzieren vermag, so ist in der Zunahme der Glutathionkonzentration während der Insulinhypoglykämie ein Versuch des Organismus zu sehen, dem rapiden Blutzuckersturz und damit dem Nährstoffmangel durch Inaktivierung wenigstens eines Teiles des Insulins entgegenzuwirken.

5.) Ascorbinsäure (Vitamin C) : Der normale Ascorbinsäuregehalt des Blutes wird unterschiedlich hoch angegeben. Nach Untersuchungen in den Laboratorien von HOFFMANN-LA ROCHE

beträgt er 0,9 mg%, nach MC GRAW HILL 0,7 - 1,2 mg%.

RICHERI und LITTER bestimmten die Ascorbinsäurekonzentration des Blutes an 167 Patienten und fanden Werte von 1,23 - 2,47 mg%. Wir ermittelten den Ascorbinsäuregehalt nach der Methode von TILLMANN in der Modifikation von VAN EEKELEN und erhielten Werte von 0,9 - 2,0 mg%. Der Durchschnittswert lag bei 1,4 mg%.

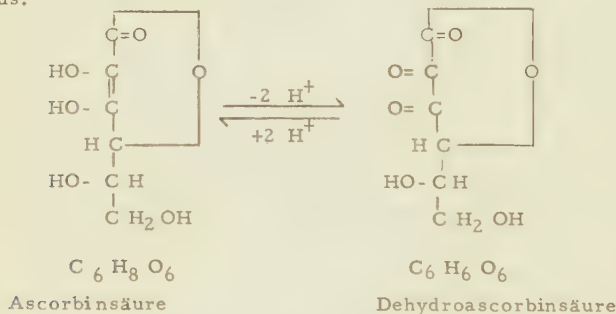
Diese Diskrepanzen zwischen den einzelnen Angaben sind sicher zum grössten Teil methodisch bedingt. Hinzu kommt, dass der Vitamin C-Gehalt des Blutes sehr starken Schwankungen unterworfen ist, da er einmal von der Vitamin-C-Zufuhr mit der Nahrung, zum anderen vom Vitamin-C-Bedarf des Organismus abhängig ist. Unter physiologischen Bedingungen liegt der Tagesbedarf eines Erwachsenen bei 30 - 75 mg, also erheblich höher als bei den meisten anderen Vitaminen, bei denen schon eine Tagesdosis von 1 - 2 mg (Aneurinhydrochlorid, Lactoflavin) oder gar 5 - 10 (Vitamin D, Vitamin B₁₂) ausreicht. Bei besonderer Belastung des Organismus, z. B. bei Infektionskrankheiten und in der Schwangerschaft, steigt der Vitamin-C-Tagesbedarf erheblich an (CASTEX, SCHTEINGART).

Wir haben im Rahmen dieser Arbeit den Einfluss des Insulins auf die Ascorbinsäurekonzentration des Blutes untersucht und stellten eine erhebliche Abnahme des Vitamin-C-Spiegels fest: im Präkoma sank der Ascorbinsäuregehalt auf 0,89 mg% im Durchschnitt ab - das ist bei einem mittleren Ausgangswert von 1,4 mg% ein Sättigungsabfall um 36,5 % -, im Koma betrug der durchschnittliche mittlere Ascorbinsäurewert nur noch 0,53 mg%. Insgesamt kam es damit während der Insulinhypoglykämie zu einem Sättigungsabfall um 62%.

Werten wir dazu die Untersuchungen von BENDA und HADWIGER aus, die Hunden und Meerschweinchen Insulin injizierten und

danach einen Anstieg des Vitamin-C-Gehaltes in den Geweben, vor allem in der Leber feststellten, so können wir aus unseren Ergebnissen den Schluss ziehen, dass unter dem Einfluss von Insulin eine vermehrte Vitamin-C-Diffusion aus dem Blute in die Gewebe erfolgt.

Es erhebt sich nun die Frage, welche Funktion das Vitamin C in den Geweben zu erfüllen hat. Es ist anzunehmen, dass es im Abbau der Kohlenhydrate eine Rolle spielt. Wahrscheinlich wirkt es als Dehydroascorbinsäure und entzieht den Kohlenhydraten den Wasserstoff, wobei die oxydierte Form (Dehydroascorbinsäure) in die reduzierte Form (Ascorbinsäure) übergeht. Diese Reaktion ist reversibel. Es bildet sich also folgendes Redoxgleichgewicht aus:



Nach neueren Untersuchungen von Merck soll Ascorbinsäure die Funktionen eines reversiblen Redoxkörpers im Zusammenhang mit einem Enzymverband ausüben. Die Struktur dieses vermuteten Enzyms ist allerdings bis heute nicht bekannt.

Mit der Rolle eines Zwischenakzeptors im Ablauf der Oxydations- bzw. Dehydrierungsprozesse der Kohlenhydrate ist die Funktion der Ascorbinsäure jedoch keineswegs erschöpft. Ihr starkes Reduktionsvermögen verleiht ihr den Charakter eines Stabilisators gegenüber leicht oxydablen Stoffen (z. B. Adrenalin und Vitamin E).

Ferner fördert Ascorbinsäure die Resorption von Eisen im Magen-Darm-Kanal. Mit vielen Vitaminen und Enzymen steht sie in wichtigen Stoffwechselbeziehungen : sie aktiviert z. B. eine Reihe von eiweiss-spaltenden Fermenten (z. B. bei der Blutgerinnung) und in der Nebennierenrinde die Bildung der Corticoide. Toxine werden dagegen inaktiviert - wahrscheinlich beruht darauf die antiinfektiöse Wirksamkeit des Vitamin C. Nach A. MEYER fördert Ascorbinsäure die Glukuronsäuresynthese und damit die Entgiftungsprozesse im Organismus. Die in den arbeitenden Geweben, besonders in der Muskulatur, in erheblicher Menge vorhandene Ascorbinsäure legt die Annahme einer Beteiligung an der Energieverwertung nahe (Merck).

Abschliessend sei die Frage nach dem Zusammenhang zwischen prolongiertem Koma und Vitamin-C-Gehalt des Blutes diskutiert. Es kommt immer wieder vor, dass Patienten durch die übliche Glukosemenge, die mittels Sonde in den Magen gebracht wird, nicht aus dem Koma "erweckt" werden können. Selbst Glukoseinjektionen, die den Blutzuckerspiegel rasch heben, sind nicht selten erfolglos. Es ist eine Erfahrungstatsache, dass in solchen Fällen manchmal intravenöse Gaben von Ascorbinsäure das prolongierte Koma abubrechen vermögen. Wie erklärt sich diese Wirkung der Ascorbinsäure ?

Hierüber geben die Tierversuche von ADDARI Aufschluss. Er stellte fest, dass Tiere, die mit einer Vitamin-C-Mangelkost ernährt wurden, die Glukose nur unvollkommen resorbieren und nur mangelhaft verwerten konnten. Aus diesen Beobachtungen können wir schliessen, dass eine wesentliche Funktion der Ascorbinsäure u. a. darin besteht, die Glukoseresorption und -verwertung zu fördern bzw. überhaupt zu ermöglichen. Ein Ascorbinsäuremangel des Organismus während der Insulinhypoglykämie muss demnach zu einem

prolongierten Koma führen, weil der akute Nährstoffmangel des Gehirns durch die Verabfolgung von Glukose nicht rasch genug beseitigt werden kann. Unter Umständen kommt es zu irreversiblen Hirnschädigungen oder zum Exitus, ohne dass der Patient das Bewusstsein wiedererlangt.

Während der Durchführung der Experimente zu dieser Arbeit von Juni 1959 bis Mai 1962 habe ich an der Universitäts-Nerven-Klinik München kein prolongiertes Koma gesehen. Der Nachweis eines als Ursache in Betracht kommenden Vitamin-C-Mangels konnte deshalb nicht erbracht werden. Wir konnten jedoch zeigen, dass nach Verabfolgung von 1 g Vitamin C per os oder 200 mg i. v. zu Beginn der Insulinhypoglykämie die Erwachensphase, d. i. die Zeit von der Glukosezufuhr bis zur Ansprechbarkeit des Patienten, deutlich verkürzt war, was auf die rasche Glukoseresorption infolge des hohen Vitamin-C-Spiegels zurückgeführt werden kann.

Ferner beobachteten wir nach Ascorbinsäuregaben ein stärkeres Absinken der Glukosekurve. Die Glukosewerte lagen in der ersten Phase der Insulinhypoglykämie um durchschnittlich 5 - 15 mg% niedriger als am Tage vorher bei denselben Patienten nach Injektion der gleichen Insulindosen aber ohne Darreichung von Ascorbinsäure. Ähnliche Beobachtungen machten auch WACHOLDER, STEPP, SCHRÖDER und ALTENBURGER. Sie injizierten stoffwechselgesunden Menschen 200 - 300 mg Ascorbinsäure, worauf die Glukosekonzentration des Blutes um 20 - 40 mg% absank. ADDARI zeigte an Tierversuchen, dass der Glukosespiegel durch Ascorbinsäure so stark gesenkt werden kann, dass ein hypoglykämisches Koma mit Krämpfen eintritt.

Nach MOSONYI, der ebenfalls eine durch Vitamin C hervorgerufene Glukosesenkung bei Tieren beschreibt, wirkt das Vitamin C auf das sympathische System im Sinne einer Tonusverminderung und übt durch eine verminderte Nebennierensekretion bzw. über die direkt zur Leber führenden sympathischen Nerven einen hemmenden Einfluss auf die Glykogenolyse der Leber aus.

AZODI stellte bei Hunden nach intravenöser Injektion von Ascorbinsäure eine vermehrte Insulinabsonderung fest und führt die Abnahme der Blutglukosekonzentration darauf zurück.

PFLEGER und SCHOLL versuchten, den Effekt der Glukosesenkung durch Ascorbinsäure beim Diabetes mellitus auszunutzen, stellten jedoch keinen Einfluss der Ascorbinsäure auf die Hyperglykämie fest.

Fassen wir die Ergebnisse zusammen, so erkennen wir folgende Vorteile der Verabfolgung hoher Dosen Ascorbinsäure für die Insulintherapie : einmal genügen geringere Insulindosen, um ein hypoglykämisches Koma zu erzeugen; diese insulineinsparende Wirkung der Ascorbinsäure kommt besonders dann zur Wirkung, wenn sehr grosse Mengen Insulin zur Komaauslösung injiziert werden müssen. Ferner erfolgt eine gesteigerte Entgiftung. Schliesslich ist infolge der glukoseresorptions- und glukoseverwertungs-fördernden Wirkung der Ascorbinsäure eine rasche Zufuhr von Nährstoffen zum Gehirn und damit nach der Glukosegabe ein schnelleres "Erwachen" des Patienten aus dem Koma gewährleistet. Durch Ascorbinsäureverabreichung kann also eine unerwünschte, über den therapeutischen Effekt hinausgehende Komaverlängerung verhütet und damit das Behandlungsrisiko gesenkt werden.

6.) Adenosinphosphorsäuren : Die physiologische Bedeutung der Adenosinphosphorsäuren besteht in der Speicherung und Übertragung der bei chemischen Prozessen im Organismus freiwerdenden Energie. Eine direkte Übertragung der Energie von energieliefernden auf energieverbrauchende Vorgänge ist nicht möglich, deshalb wird die freigewordene Energie zum Aufbau von Adenosintriphosphorsäure aus Adenosinmonophosphorsäure über Adenosindiphosphorsäure verwendet, in Form von Adenosintriphosphorsäure gespeichert und bei Bedarf übertragen und durch stufenweisen Abbau wieder frei gesetzt.

Um die Frage des Einflusses des Insulins auf den Energiestoffwechsels zu klären, habe ich die Konzentration jeder Adenosin-

phosphorsäure sowohl bei normaler Stoffwechsellaage der Testpersonen als auch in den einzelnen Phasen der Insulinhypoglykämie bestimmt. Die bei normalen Stoffwechselverhältnissen ermittelten AMP-, ADP- und ATP-Werte stimmen im wesentlichen mit den Angaben von HÖTZL und LAUDAHN überein, die die Adenosinphosphorsäuren nach der gleichen Methode bestimmten. Untersuchungen über die AMP-, ADP- und ATP-Konzentration des Blutes nach Verabfolgung hoher Insulindosen sind bisher nicht beschrieben. Unsere Messungen, die in Tabelle B zusammengestellt sind, ergaben in der ersten Phase der Insulinhypoglykämie einen ATP-Anstieg von 22,7 mg% auf 24,7 mg% im Durchschnitt. Im Koma sank der ATP-Gehalt wieder ab. Die mittlere AMP- und ADP-Konzentration blieben während der Insulinhypoglykämie unverändert.

Wie erklärt sich die Erhöhung der ATP-Konzentration unter dem Einfluss von Insulin? Wir wissen, dass Insulin den Kohlenhydratabbau beschleunigt. Eine Steigerung des Kohlenhydratabbaus hat eine erhöhte Freisetzung von Energie und damit eine vermehrte ATP-Bildung zur Folge; umgekehrt sinkt der ATP-Spiegel mit zunehmendem Rückgang des Kohlenhydratumsatzes. Der ATP-Anstieg ist jedoch bei weitem nicht so hoch wie er nach der Grösse des Kohlenhydratumsatzes sein müsste. Das beruht einmal darauf, dass die Glukose nicht wie bei Arbeitsleistungen vollständig zu CO_2 und H_2O , sondern nur zu solchen Stoffen abgebaut wird, bei deren Bildung wenig Energie frei wird, zum anderen darauf, dass Insulin die Umsetzung von ATP fördert, indem es energieverbrauchende Prozesse, wie die Synthese von Fett, Eiweiss und Glykogen, steigert. Der tatsächliche Anstieg der ATP-Konzentration während der Insulinhypoglykämie ist also sicher grösser als 9%, praktisch jedoch nicht messbar, da die gebildete Adenosin-triphosphorsäure sofort wieder zum Zwecke der Energiegewinnung

umgesetzt wird.

Die Wirkung des Insulins auf den Energiestoffwechsel besteht also in der Intensivierung sowohl der Synthese als auch der Verwertung von Adenosintriphosphorsäure.

7.) Bemerkungen zur Dosierung des Insulins : Die Tatsache, dass die zur Auslösung eines hypoglykämischen Komas notwendige Insulindosis von Fall zu Fall verschieden ist, konnte auch durch diese Arbeit bestätigt werden. Wir benötigten zwischen 50 und 300 E Altinsulin, um einen "somatisch deutlich sichtbaren Zustand mit Koma" herbeizuführen.

VON BRAUNMÜHL gibt die Komadosis mit 20 - 600 E Altinsulin an. Er berichtet, dass in einigen Fällen selbst nach der Injektion von 800 E Altinsulin kein Koma eintrat. Demgegenüber beobachtete REHN während des 1. Weltkrieges, dass Soldaten nach den Aufregungen einer Schlacht auf an und für sich geringfügige Verletzungen in ein echtes hypoglykämisches Koma verfielen. DIENST schliesst daraus, dass die psychische Verfassung und die allgemeine Reaktionslage bei der Komaentstehung eine Rolle spielen.

Nach VOELKEL, DRESLER und MOTHES sollen auch konstitutionelle Momente mitbestimmend sein. Sie stellten fest, dass insbesondere männliche Patienten athletischen Typs und weibliche Patienten pyknisch-athletoider Konstitution sehr hohe Insulindosen benötigen, um in ein Koma zu kommen. Bei Leptosomen und Asthenikern ist die Komadosis dagegen besonders gering, was MEYTHALER und EHRMANN auf den niedrigen Adrenaltonus bei diesen Typen zurückführen. Wir konnten diese Beobachtungen zwar in einigen Fällen bestätigen, das dieser Arbeit zugrunde liegende Material ist jedoch zu gering, als dass wir verbindliche Aussagen darüber machen könnten, inwieweit die zur Komaauslösung notwendige

Insulindosis vom Konstitutionstyp abhängig ist.

Wir glauben, dass weniger konstitutionelle und psychische Momente als vielmehr die augenblickliche funktionelle und strukturelle Verfassung des Gehirns die Komadosis bestimmt.

ZUSAMMENFASSUNG

Bei 43 Patienten wurde während der therapeutischen Insulinhypoglykämie der Blutzucker reduktometrisch nach HAGEDORN-JENSEN und enzymatisch mit Glukoseoxydase bestimmt. Ausserdem wurden die Glutathion-, Ascorbinsäure-, AMP-, ADP- und ATP-Konzentrationen in den einzelnen Phasen des hypoglykämischen Geschehens untersucht. Die Ergebnisse wurden statistisch geprüft.

Die Vorteile der enzymatischen Blutzuckerbestimmungsmethode werden diskutiert.

Während der Insulinhypoglykämie wurden über 3 - 4 Stunden excessiv tiefe Glukosewerte gefunden, ohne dass irreversible Hirnschädigungen auftraten.

Es wird diskutiert, welche Vorgänge das Gehirn befähigen zu überleben.

Die Restreduktion stieg während der Insulinhypoglykämie an; der Anstieg war im wesentlichen auf eine Zunahme der Glutathionkonzentration zurückzuführen.

Die Zusammenhänge zwischen Glutathion und Kohlenhydratstoffwechsel werden aufgezeigt; die Bedeutung des Glutathionanstiegs für den Organismus wird diskutiert.

Auf die Vorteile einer Ascorbinsäureverabreichung bei der Insulintherapie wird hingewiesen.

34. Höpker: Ärztl. Forschg. 4 (1950), 641 und 5 (1951), 329
35. Höpker: Klin. Wschr. 24/25 (1947), 337
36. Höst and Hattlehol: Journ. of Biol. chem. 42, 344
37. Hötzel, H. A. Ärztl. Wschr. 13 (1958), 726
38. Hugget, A. St. and D. A. Nixon: Biochem. J. 66 (1956), 12
39. Jaschke, O.: Psychiatr. neurol. Wschr. 1929, 545
40. Klemperer, E. Mschr. Psychiatr. 74, 1929
41. Knauff, H. G. und F. Böck: Klin. Wschr. 38 (1960), 553
42. Küppers, E. Dtsch. med. Wschr. 1937, I, 3777
43. Laudahn, G. Klin. Wschr. 37 (1959) 850
44. Lohmann Hoppe-Seylers-Zschr. 305 (1956), 192
45. Lohmann, K. Biochem. Zschr. 254 (1932) 332
46. Lohmann und Wallenfels, V.: Angew. Chemie 65 (1953), 581
47. Macleod, J. J. R. "Kohlenhydratstoffwechsel und Insulin"
Springer-Verlag, Berlin, 1927
48. Meyer, A. Vitamine und Hormone 2 (1942), 270
49. Meyer, A. Chem. Zschr. II (1942), 2607
50. Meythaler: Ärztl. Forschg. 3 (1949), 7
51. Meythaler: Dtsch. Arch. f. klin. Med. 198 (1951), 305
52. Miskolczy, D.: Psychiatr. neurol. Wschr. 35 (1927)
53. Müsebeck, K.: Zschr. inn. Med. 12 (1957), 186
54. Planchart, A. and R. Villalba: Chem. abstr. (1946), 11423
55. Rössel und Wullen: Zschr. f. klin. Med. 148 (1951), 331
56. Sakel, M.: Schweiz. Arch. Neur. (1936) 155
57. Sakel, M.: Wien. klin. Wschr. (1936) II, 1278
58. Sakel, M.: Schweiz. Arch. Neur. 39 (1937), 229
59. Sakel, M.: Wien. klin. Wschr. (1937) II, 1108
60. Slotopolsky, B.: Schweiz. med. Wschr. 68 (1938)
61. Steck, H. Schweiz. med. Wschr. Nr. 3 (1936)
62. Stepp und Schröder: Klin. Wschr. 1935, I, 933
63. Stich und Wolff: Die Med. Welt 20 (1951), 1535
64. Vendeg, V. Ber. über d. ges. Physiologie 66 (1932), 668
65. Voelkel, A., J. -CH! Dresler und Ch. Mothes: Der Nervenarzt
5 (1957), 220
66. Vogel, G. Ges. inn. Med. 4 (1949), 493
67. Wacholder: Fortschr. Neur. 10, 260
68. Wallenfels, V.: Ärztl. Forschg. 5 (1951), 430
69. Walter, E. Inaug. Diss., München 1959
70. Wieland, Th., K. Dose und G. Pfeleiderer: Biochem. Zschr. 326 (1955),
442
71. Wieland, Th. und H. Köppe: Liebig's Ann. 581 (1953), 1
72. Wolff, G.: Fortschritte d. Med. 70 (1952), 325
73. Wortis, H., K. Bowman and W. Goldfarb: Amer. J. Physiol. 97 (1940) 552
74. Zeghauser und Erb: Zit. n. Fischer
75. Zimmermann: Mschr. Psych. 100 (1938), 248
76. Zülzer: Dtsch. med. Wschr. (1908) 1380

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. A. SCHRADER für die Überlassung des Themas danken.

Den Herren Prof. Dr. Dr. G. BODECHTEL und Prof. Dr. K. KOLLE danke ich für die Ermöglichung der Durchführung der Untersuchungen in ihren Kliniken.

Besonderer Dank gebührt Herrn Dr. F. BAUMGARTEN für die freundliche Beratung und die Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit. Herr Dr. BAUMGARTEN liess mir seine reichen Erfahrungen auf dem Gebiete der Papierchromatographie und der methodischen Untersuchungen des Blutzuckers zugute kommen und machte mir zahlreiche Literaturquellen zugänglich.

Ferner möchte ich Herrn Dr. F. MATSCHINSKI für die zukommende Beratung beim enzymatischen Glutathionnachweis danken.

Lebenslauf

Am 20. 2. 1936 wurde ich in Grosshartmannsdorf bei Bunzlau/Niederschlesien als Tochter des Oberlehrers Martin Kiehlmann und dessen Ehefrau Margarete Kiehlmann, geb. Baumert, geboren. Von 1942 bis 1945 besuchte ich die Volksschule in Grosshartmannsdorf, von 1945 bis 1950 die Grundschule in Zittau/Sachsen und von 1950 bis 1954 das Gymnasium in Zittau. Hier legte ich im Juni 1954 die Reifeprüfung ab.

Mein Medizinstudium begann ich 1954 in Berlin. Ich studierte hier zwei Semester. Von Mai 1956 bis Juli 1958 war ich an der Universität Tübingen immatrikuliert und legte hier im April 1958 die Ärztliche Vorprüfung ab. Das klinische Studium absolvierte ich, bis auf das Sommersemester 1958 in Tübingen, an der Universität München, wo ich am 31. Juli 1962 das Staatsexamen bestand. Anschliessend war ich als Medizinalassistentin im Krankenhaus rechts der Isar in München, im Staatlichen Sanatorium Bad Steben und an der Medizinischen Universitätsklinik Köln tätig. Meine Approbation erhielt ich am 31. 10. 1964.

Am 20. 8. 1964 ging ich die Ehe mit dem Arzt Dr. Hans-Werner Krüger ein.

